

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA  
CENTRO DE BIOTECNOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA - MESTRADO**

**EFICIÊNCIA DE FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS SOBRE FORMIGAS  
CORTADEIRAS (HYMENOPTERA: FORMICIDAE)**

**NATHALIA SOUZA BEZERRA**

**JOÃO PESSOA - PARAÍBA  
FEVEREIRO - 2018**

**NATHALIA SOUZA BEZERRA**

**EFICIÊNCIA DE FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS SOBRE FORMIGAS  
CORTADEIRAS (HYMENOPTERA: FORMICIDAE)**

Dissertação apresentada à Banca Examinadora do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, do Centro de Biotecnologia da Universidade Federal da Paraíba, como parte dos requisitos para obtenção do Título de Mestre em Biotecnologia.

**Orientadora:**

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Adna Cristina Barbosa de Sousa

**JOÃO PESSOA - PARAÍBA**

**FEVEREIRO - 2018**

**Catálogo na publicação**  
**Seção de Catalogação e Classificação**

B574e Bezerra, Nathalia Souza.  
Eficiência de fungos entomopatogênicos sobre formigas  
cortadeiras (Hymenoptera: Formicidae) / Nathalia Souza  
Bezerra. - João Pessoa, 2018.  
93 f. : il.

Orientação: Adna Cristina Barbosa de Sousa.  
Dissertação (Mestrado) - UFPB/CBIOTEC.

1. Biotecnologia. 2. Formigas cortadeiras. 3. Controle  
biológico. I. Sousa, Adna Cristina Barbosa de. II.  
Título.


UFPB/BC


NATHALIA SOUZA BEZERRA

**EFICIÊNCIA DE FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS SOBRE FORMIGAS  
CORTADEIRAS (HYMENOPTERA: FORMICIDAE)**

Dissertação apresentada à Banca Examinadora do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Centro de Biotecnologia da Universidade Federal da Paraíba, como parte dos requisitos para obtenção do Título de Mestre em Biotecnologia.

BANCA EXAMINADORA

  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Adna Cristina Barbosa de Sousa (Orientadora/UFPB)

  
Prof. Dr. Ian Porto Gurgel do Amaral (Membro Interno/UFPB)

  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Andréa Farias de Almeida (Membro Externo/UFPB)

**A Louis Pasteur,**  
um dos microbiologistas mais notáveis de todos os tempos,  
fonte inesgotável de inspiração e dedicação ao trabalho científico.  
Por suas contribuições à Ciência e à humanidade,  
**DEDICO.**

## AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, eu gostaria de agradecer a minha orientadora, a Professora **Dr<sup>a</sup>. Adna Cristina Barbosa de Sousa**, pelo exemplo de Professora e de ser humano, sempre disposta a ajudar, sempre dando o melhor de si, sempre cuidando, incentivando e acreditando no potencial de seus alunos.

Em segundo lugar, eu gostaria de expressar a minha gratidão aos Professores do Curso de Graduação em Ciências Biológicas da Universidade Federal da Paraíba, em especial **Adeildo Rosa de Lima Júnior, Gilson Ferreira de Moura, Eliete Lima de Paula Zárate, Felipe Wartchow e Robson Tamar da Costa Ramos**, por toda ajuda e apoio prestados durante a minha transição para a Pós-Graduação.

Aos **Professores do Centro de Biotecnologia da UFPB**, por compartilharem diariamente do seu conhecimento, experiência e sabedoria, contribuindo para o meu crescimento acadêmico e pessoal, sendo uma fonte de inspiração para os seus alunos.

Aos membros da Banca Avaliadora, os Professores **Dr. Ian Porto Gurgel do Amaral e Dr<sup>a</sup>. Andréa Farias de Almeida** por terem aceitado participar da avaliação deste trabalho e por todas as suas sugestões e contribuições valiosas.

Ao **Professor Dr. Ulrich Vasconcelos da Rocha Gomes** por ter cedido, gentilmente, o isolado de *Paecilomyces* sp. TP08.

À **Alexandre Martins Filho**, pela ajuda inestimável na estatística, colaborando diretamente para enriquecer o presente trabalho.

Aos meus colegas da segunda turma do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da UFPB, **Cícero, Manu e Anne**, pela amizade, companheirismo e por estarem comigo ao longo dessa jornada.

Aos meus colegas do LAGEMOL e do LEBp, **Ana Gabriella, Laísa, Geisi, Carol, Hércules, Gilanna, Adrielly, Débora, César, Paloma, Tarcísio, Ray, Arauana e Ubiratan**, pela convivência no Laboratório, pelas coletas em campo, por toda ajuda e por todos os momentos divertidos que passamos juntos.

À **Willianne Cavalcante do Nascimento** por ter cedido, gentilmente, os exemplares de carrapatos utilizados nessa pesquisa.

À secretária **Tânia Maria A. de Araújo** do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da UFPB, pela atenção e disponibilidade em me atender em todos os momentos que precisei.

À **Universidade Federal da Paraíba**, por fornecer a estrutura e o corpo de profissionais essenciais a minha formação.

À **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)**, pelo apoio financeiro.

A **todos** que direta ou indiretamente contribuíram para que fosse possível a realização deste trabalho.

Aos meus pais, **José e Fátima**, por todo amor, carinho e compreensão.

Ao meu avô e padrinho **Sebastião Gomes da Rocha**.

“My scientific studies have afforded me great gratification;  
and I am convinced that it will not be long before the whole world  
acknowledges the results of my work.”

**Gregor Mendel**



**LISTA DE SÍMBOLOS**

<b>%</b>	Porcentagem
<b>°C</b>	Grau celsius
<b>g</b>	Grama
<b>g/L</b>	Grama por litro
<b>Kg</b>	Quilograma
<b>L</b>	Litro
<b>mL</b>	Mililitro
<b>mm</b>	Milímetro
<b>μm</b>	Micrômetro

**LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

<b>ANOVA</b>	Análise de variância
<b>EP</b>	Erro padrão
<b>GABA</b>	Ácido gama-aminobutírico
<b>MIP</b>	Manejo integrado de pragas
<b>SAB</b>	Ágar-Sabouraud-Dextrose
<b>TL<sub>50</sub></b>	Tempo letal <sub>50</sub>

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 01:</b> Formigas cortadeiras (A). Formiga do gênero <i>Acromyrmex</i> . (B) Formiga do gênero <i>Atta</i> , destacando-se o número de espinhos dorsais .....	19
<b>Figura 02:</b> Ninho de formigas cortadeiras.....	21
<b>Figura 03:</b> Conidióforo e conídios de <i>Metarhizium anisopliae</i> .....	28
<b>Figura 04:</b> Conidióforo e conídios de <i>Beauveria bassiana</i> .....	29
<b>Figura 05:</b> Conidióforo e conídios de <i>Beauveria brongniartii</i> .....	30
<b>Figura 06:</b> Conidióforo e conídios de <i>Aspergillus</i> sp .....	31
<b>Figura 07:</b> Conidióforo e conídios de <i>Paecilomyces</i> sp .....	32
<b>Figura 08:</b> Visão geral do ciclo de infecção do fungo <i>Beauveria bassiana</i> em um invertebrado.....	33
<b>Figura 09:</b> Estrutura química do Fipronil .....	37
<b>Figura 10:</b> Cultura em lâminula do isolado de <i>Aspergillus</i> sp. (A) Cultura em lâminula em meio Ágar-Sabouraud-Dextrose. (B) Lâminula com micélio aderido corada com lactofenol para visualização das estruturas fúngicas ao microscópio óptico.....	45
<b>Figura 11:</b> Micrografias dos isolados de fungos entomopatogênicos. (A) Conídios e conidióforo - <i>Aspergillus</i> sp. (B) Conídios e conidióforo - <i>Beauveria bassiana</i> . (C) Conídios e conidióforo - <i>Beauveria brongniartii</i> . (D) Apressório - <i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i> . (E) Conídios em cadeia - <i>Paecilomyces</i> sp .....	47
<b>Figura 12:</b> Revigoração de diferentes isolados fúngicos entomopatogênicos através da passagem em adultos do carrapato <i>Boophilus microplus</i> . (A) <i>Beauveria bassiana</i> . (B) <i>Beauveria brongniartii</i> . (C) <i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i> . (D) <i>Paecilomyces</i> sp. Período de incubação - 10 dias (T= 25 ± 2 °C; umidade relativa 70 ± 10 %)......	48
<b>Figura 13:</b> Aspecto macroscópico das colônias fúngicas. (A) <i>Aspergillus</i> sp. (A1) Frente. (A2) Verso. (B) <i>Beauveria bassiana</i> . (B1) Frente. (B2) Verso. (C) <i>Beauveria brongniartii</i> . (C1) Frente. (C2) Verso. (D) <i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i> . (D1) Frente. (D2) Verso. (E) <i>Paecilomyces</i> sp. (E1) Frente. (E2) Verso. Período de incubação - 10 a 15 dias (Meio Ágar-Sabouraud-Dextrose; T= 25 ± 2 °C; umidade relativa 70 ± 10 %).....	50
<b>Figura 14:</b> Bioensaio com formigas cortadeiras. (A) Início do bioensaio com formigas cortadeiras. (B) Destaque para o comportamento exibido pelas formigas cortadeiras durante a realização do ensaio em laboratório.....	51
<b>Figura 15:</b> Extrusão de fungos entomopatogênicos em cadáveres de formigas cortadeiras. (A) <i>Aspergillus</i> sp. (B) <i>Beauveria bassiana</i> . (C) <i>Beauveria brongniartii</i> . (D) <i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i> . (E) <i>Paecilomyces</i> sp .....	52
<b>Figura 16.</b> Mortalidade (%) de formigas cortadeiras submetidas ao tratamento controle (água destilada autoclavada + Tween 80 0,01 %) e às concentrações de 1,0 x 10 <sup>4</sup> conídios.mL <sup>-1</sup> + Tween 80 0,01 % e 1,0 x 10 <sup>8</sup> conídios.mL <sup>-1</sup> + Tween 80 0,01 % de diferentes isolados de fungos entomopatogênicos. Período de incubação - 10 dias, T = 25 ± 2 °C e umidade relativa 70 ± 10 % (n=30).....	53

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 01:</b> Origem dos cinco isolados fúngicos entomopatogênicos de <i>Beauveria bassiana</i> , <i>Beauveria brongniartii</i> , <i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i> , <i>Paecilomyces</i> sp. e <i>Aspergillus</i> sp .....	40
<b>Tabela 02:</b> Mortalidade média ( $\pm$ EP) e tempo letal médio (TL <sub>50</sub> ) referentes ao bioensaio realizado com formigas cortadeiras submetidas à concentração de $1,0 \times 10^4$ conídios.mL <sup>-1</sup> de cinco isolados de fungos entomopatogênicos. Período de incubação - 10 dias (T = $25 \pm 2$ °C e umidade relativa $70 \pm 10$ %) (n=30) .....	54
<b>Tabela 03:</b> Mortalidade média ( $\pm$ EP) e tempo letal médio (TL <sub>50</sub> ) referentes ao bioensaio realizado com formigas cortadeiras submetidas à concentração de $1,0 \times 10^8$ conídios.mL <sup>-1</sup> de cinco isolados de fungos entomopatogênicos. Período de incubação - 10 dias (T = $25 \pm 2$ °C e umidade relativa $70 \pm 10$ %) (n=30) .....	55
<b>Tabela 04:</b> Efeito do inseticida Fipronil sobre o crescimento vegetativo (mm) de diferentes isolados de fungos entomopatogênicos. Período de incubação - 10 dias (Meio Ágar-Sabouraud-Dextrose; [Fipronil] = 0,8 g/L; T = $25 \pm 2$ °C; umidade relativa $70 \pm 10$ %) (n=3) baseado na porcentagem média $\pm$ EP .....	59
<b>Tabela 05:</b> Efeito do inseticida Fipronil sobre a esporulação (conidiogênese) em diferentes isolados de fungos entomopatogênicos. Período de incubação - 10 dias (Meio Ágar-Sabouraud-Dextrose; [Fipronil] = 0,8 g/L; T = $25 \pm 2$ °C; umidade relativa $70 \pm 10$ %) (n=3) baseado na porcentagem média $\pm$ EP .....	60
<b>Tabela 06:</b> Valores calculados do índice “T” e classificação do inseticida Fipronil quanto à toxicidade <i>in vitro</i> sobre <i>Aspergillus</i> sp., <i>Beauveria bassiana</i> , <i>Beauveria brongniartii</i> , <i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i> e <i>Paecilomyces</i> sp. TP08. Período de incubação - 10 dias (Meio Ágar-Sabouraud-Dextrose; [Fipronil] = 0,8 g/L; T = $25 \pm 2$ °C; umidade relativa $70 \pm 10$ %) (n=3) .....	60

Bezerra, Nathalia Souza. Eficiência de fungos entomopatogênicos sobre formigas cortadeiras (Hymenoptera: Formicidae). 2018. 93 p. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia. Centro de Biotecnologia, Universidade Federal da Paraíba (UFPB), *Campus I*, João Pessoa, Paraíba, Brasil.

## RESUMO

As formigas cortadeiras dos gêneros *Atta* e *Acromyrmex* são consideradas importantes pragas do Neotrópico. Atualmente, o principal método de controle empregado é o uso de inseticidas químicos. Contudo, existe uma crescente preocupação acerca dos efeitos negativos das aplicações frequentes de inseticidas em organismos não-alvo, na saúde humana e no ambiente. Os fungos entomopatogênicos podem, naturalmente, infectar insetos hospedeiros via penetração direta da cutícula e têm sido estudados em todo o mundo como promissores agentes de controle biológico. Dito isso, o objetivo desse trabalho é avaliar a eficiência de isolados de *Beauveria bassiana*, *Beauveria brongniartii*, *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae*, *Paecilomyces* sp. e *Aspergillus* sp. sobre formigas cortadeiras em laboratório. Além de analisar o efeito do Fipronil sobre o crescimento vegetativo e conidiogênese dos isolados fúngicos. Para cada espécie de fungo, foi realizado um experimento com 90 exemplares de formigas cortadeiras, correspondendo a três repetições de 10 formigas para cada tratamento (Tratamento 1<sub>Grupo controle</sub> = água destilada autoclavada + Tween 80 0,01 %; Tratamento 2 = suspensão de  $1,0 \times 10^4$  conídios.mL<sup>-1</sup> + Tween 80 0,01 %; Tratamento 3 = suspensão de  $1,0 \times 10^8$  conídios.mL<sup>-1</sup> + Tween 80 0,01 %). As formigas foram transferidas individualmente para placas de Petri contendo papel de filtro com 1 mL da suspensão de conídios e bolas de algodão umedecidas com uma solução de mel a 10 %. As placas foram mantidas à temperatura de  $25 \pm 2$  °C e umidade relativa de  $70 \pm 10$  % e avaliadas a cada 24 horas durante 10 dias, para observação da extrusão dos fungos e confirmação da morte dos insetos pelos patógenos. Para determinar o efeito do inseticida sobre o crescimento vegetativo e conidiogênese dos isolados fúngicos, 0,8 g/L do produto e 0,3 g/L de penicilina foram adicionados ao meio de cultura Ágar-Sabouraud-Dextrose. Após 10 dias, o diâmetro de cada colônia foi medido com o auxílio de uma régua e os conídios foram contados em câmara de Neubauer. O Fipronil foi, então, classificado quanto à toxicidade *in vitro* sobre os isolados. Como resultado do bioensaio, obteve-se que as duas concentrações de conídios utilizadas ( $1,0 \times 10^4$  e  $1,0 \times 10^8$  conídios.mL<sup>-1</sup>) foram capazes de assegurar a infecção e o progresso da doença nas formigas cortadeiras, com a mortalidade média das formigas variando entre  $4,80 \pm 2,10$  e  $9,99 \pm 0,00$  e o TL<sub>50</sub> variando entre 6,01 e 10,22 dias. Em relação às concentrações de conídios, observou-se que, em alguns casos, o aumento da concentração contribuiu para se elevar a mortalidade nos insetos. Entre todos os isolados, *Aspergillus* sp. foi o que apresentou as maiores mortalidades médias ( $9,99 \pm 0,10$  e  $9,99 \pm 0,00$ ) e os menores TL<sub>50</sub> (6,47 e 6,01 dias) para ambas as concentrações de conídios. Os isolados fúngicos tratados com Fipronil apresentaram uma redução no crescimento vegetativo. Contudo, o inseticida não comprometeu significativamente a conidiogênese dos mesmos. Conclui-se, portanto, que o bioensaio descrito no presente estudo permitiu a descoberta de isolados com grande potencial para serem avaliados em campo para o controle biológico de formigas cortadeiras, contribuindo para o desenvolvimento de alternativas mais eficazes e menos danosas ao ambiente para o controle desses insetos-praga e que o Fipronil, na concentração testada, mostrou-se “compatível” para os isolados fúngicos no teste de compatibilidade *in vitro*.

**Palavras-chave:** Biotecnologia, formigas cortadeiras, controle biológico.

Bezerra, Nathalia Souza. Efficiency of entomopathogenic fungi against leaf-cutting ants (Hymenoptera: Formicidae). 2018. 93 p. Dissertation - Graduate School - Federal University of Paraíba (UFPB), *Campus I*, João Pessoa, Paraíba, Brazil.

## ABSTRACT

Leaf-cutting ants of the genera *Atta* and *Acromyrmex* are recognised as important pests of the Neotropics. Currently, the main control method is the use of chemical insecticides. However, there is a growing concern about the negative effects of the frequent applications of insecticides on non-target organisms, human health and the environment. Entomopathogenic fungi can naturally infect insect hosts via direct penetration of the cuticle and have been investigated worldwide as promising biological control agents. Thus, the aim of this study is to evaluate the efficiency of *Beauveria bassiana*, *Beauveria brongniartii*, *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae*, *Paecilomyces* sp. and *Aspergillus* sp. against leaf-cutting ants in laboratory. We also analyzed the effect of Fipronil on the vegetative growth and conidiogenesis of the fungal isolates. For each species of fungus, an experiment with 90 specimens of leaf-cutting ants was carried out, corresponding to three replicates of 10 ants for each treatment (Treatment 1<sub>Control group</sub> = autoclaved distilled water + *Tween* 80 0.01 %; Treatment 2 = suspension of  $1.0 \times 10^4$  conidia.mL<sup>-1</sup> + *Tween* 80 0.01 %; Treatment 3 = suspension of  $1.0 \times 10^8$  conidia.mL<sup>-1</sup> + *Tween* 80 0.01 %). The ants were transferred individually to Petri dishes containing filter paper with 1 mL of the conidia suspension and cotton balls moistened with a 10 % honey solution. The plates were kept at a temperature of  $25 \pm 2$  °C and relative humidity of  $70 \pm 10$  %, and evaluated every 24 hours for 10 days, to observe the extrusion of the fungi and to confirm the death of the insects by the pathogens. To determine the effect of the insecticide on the vegetative growth and conidiogenesis of the fungal isolates, 0.8 g/L of the product and 0.3 g/L of penicillin were added to the Sabouraud-Dextrose-Agar culture medium. After 10 days, each colony diameter was measured with a ruler and the conidia were counted using a Neubauer chamber. As a result of the bioassay, both concentrations of conidia used ( $1.0 \times 10^4$  and  $1.0 \times 10^8$  conidia.mL<sup>-1</sup>) were able to assure infection and disease progression in the leaf-cutting ants, with the mortality of the ants ranging from  $4.80 \pm 2.10$  to  $9.99 \pm 0.00$  (mean  $\pm$  SE) and LT<sub>50</sub> ranging from 6.01 to 10.22 days. Regarding the two concentrations tested, we observed that, in some cases, insect mortality increased as conidia concentration increased. Among all isolates *Aspergillus* sp. was the one that had the highest mean mortalities ( $9.99 \pm 0.10$  and  $9.99 \pm 0.00$ ) and the lowest LT<sub>50</sub> (6.47 and 6.01 days) for both concentrations. Fipronil-treated fungal isolates showed a reduction in vegetative growth, but the insecticide did not significantly compromise the conidiogenesis of the isolates. In conclusion, the bioassay described in this study allowed the discovery of isolates with great potential to be evaluated in field conditions for the biological control of leaf-cutting ants, contributing to the development of more effective and environmentally friendly alternatives for the control of these insect-pests and Fipronil, was classified as “compatible” with the fungal isolates based on the *in vitro* compatibility test.

**Key-words:** Biotechnology, leaf-cutting ants, biological control.

## SUMÁRIO

<b>RESUMO .....</b>	<b>xiii</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>xiv</b>
<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>17</b>
<b>2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA .....</b>	<b>19</b>
<b>2.1 Formigas cortadeiras.....</b>	<b>19</b>
<b>2.1.1 Formigas cortadeiras: importância ecológica.....</b>	<b>22</b>
<b>2.1.2 Formigas cortadeiras: importância econômica.....</b>	<b>23</b>
<b>2.1.3 Controle de formigas cortadeiras .....</b>	<b>23</b>
<b>2.1.3.1 Métodos biológicos .....</b>	<b>23</b>
<b>2.1.3.2 Métodos culturais .....</b>	<b>24</b>
<b>2.1.3.3 Métodos mecânicos .....</b>	<b>25</b>
<b>2.1.3.4 Métodos químicos .....</b>	<b>25</b>
<b>2.2 Controle biológico de pragas com fungos entomopatogênicos.....</b>	<b>26</b>
<b>2.3 Mecanismos biológicos da ação dos fungos entomopatogênicos sobre os</b> <b>hospedeiros.....</b>	<b>32</b>
<b>2.4 Vantagens e limitações da utilização de fungos entomopatogênicos no controle</b> <b>biológico de insetos-praga.....</b>	<b>35</b>
<b>2.5 Manejo integrado de pragas .....</b>	<b>36</b>
<b>2.6 Fipronil.....</b>	<b>37</b>
<b>3. OBJETIVOS .....</b>	<b>39</b>
<b>3.1 Objetivo geral .....</b>	<b>39</b>
<b>3.2 Objetivos específicos .....</b>	<b>39</b>
<b>4. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>40</b>
<b>4.1 Origem dos insetos e carrapatos .....</b>	<b>40</b>
<b>4.2 Origem dos isolados fúngicos .....</b>	<b>40</b>
<b>4.3 Meio de cultura e manutenção das culturas fúngicas .....</b>	<b>41</b>
<b>4.4 Exame microscópico dos isolados fúngicos.....</b>	<b>41</b>
<b>4.5 Revigoração dos isolados fúngicos .....</b>	<b>41</b>
<b>4.6 Preparo das suspensões de conídios.....</b>	<b>41</b>
<b>4.7 Teste de patogenicidade .....</b>	<b>42</b>
<b>4.8 Avaliação do efeito do inseticida Fipronil sobre o crescimento vegetativo e</b> <b>esporulação de isolados fúngicos entomopatogênicos.....</b>	<b>42</b>

4.9 Classificação do inseticida Fipronil quanto à toxicidade sobre diferentes isolados de fungos entomopatogênicos .....	43
4.10 Análise estatística .....	43
4.10.1 Teste de patogenicidade com formigas cortadeiras .....	43
4.10.2 Ensaio com Fipronil.....	44
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>45</b>
5.1 Micrografias dos isolados fúngicos .....	45
5.2 Revigoração dos isolados fúngicos .....	48
5.3 Teste de patogenicidade com formigas cortadeiras .....	50
5.4 Avaliação do efeito do inseticida Fipronil sobre o crescimento vegetativo e esporulação (conidiogênese) em diferentes isolados de fungos entomopatogênicos e classificação quanto à toxicidade <i>in vitro</i> .....	58
<b>6. CONCLUSÕES .....</b>	<b>64</b>
<b>7. REFERÊNCIAS .....</b>	<b>65</b>



## 1. INTRODUÇÃO

As formigas cortadeiras, gêneros *Atta* e *Acromyrmex*, provocam danos aos cultivos agrícolas e florestais ao cortarem material vegetal, em sua maioria folhas, e utilizá-lo como substrato para o cultivo de um fungo simbiote, o qual constitui o principal alimento para as larvas, a rainha e os adultos. Muitas vezes, devido ao tamanho do formigueiro, é necessário um grande volume de folhas para atender a demanda alimentar da população. Estima-se que as formigas cortadeiras sejam capazes de coletar cerca de 22 a 940 kg (peso seco) de matéria vegetal por colônia ao ano. Devido ao seu potencial desfoliador são consideradas uma das cinco pragas de maior importância na América Latina, sendo responsáveis por cerca de 75 % dos custos e do tempo gasto no controle de pragas (VILELA, 1986 apud CANTARELLI et al., 2008; LOECK et al., 2001; RICCI et al., 2005 apud TEJEDA et al., 2017; DANS et al., 2009; SILVA et al., 2013a; ARAGÓN-GARCIA et al., 2016).

O controle de formigas cortadeiras tem sido realizado, predominantemente, por meio da utilização de inseticidas químicos como o Fipronil e a Sulfluramida (BRASIL, 2010 apud ORTIZ et al., 2017). Essa estratégia de controle tem apresentado grandes dificuldades, em virtude da contaminação ambiental, baixa especificidade, possibilidade de ressurgência da praga, seleção de insetos resistentes e dos riscos potenciais à saúde humana e animal. Diante dessa situação, tem crescido, nos últimos anos, um interesse científico pela busca e implementação de métodos menos agressivos ao ambiente, animais e humanos (LEMUS et al., 2008; GUERRERO, 2013; BARBOSA et al., 2015; MARQUES et al., 2016).

O controle biológico com entomopatógenos é visto como uma alternativa viável, segura e compatível com o ambiente para o controle de insetos-praga (CHÁVEZ et al., 2016). Os organismos entomopatogênicos são aqueles que apresentam especificidade e infectam os insetos. Nesse grupo estão incluídos os vírus, as bactérias, os protozoários, os nematóides e os fungos (GUERRA et al., 2001). Dentre esses agentes entomopatogênicos, destacamos os fungos filamentosos *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana*, *Beauveria brongniartii*, *Paecilomyces* sp. e *Aspergillus* sp. Esses fungos, naturalmente, infectam mais de 300 espécies de insetos de diversas Ordens, incluindo pragas importantes da agricultura, da pecuária e da saúde pública (SILVA, 2017). Tendo em vista esses aspectos, o melhor conhecimento sobre a dinâmica, desde a especificidade até a colonização fúngica numa população-alvo, relacionada à transmissão horizontal de propágulos fúngicos, irá contribuir para um controle mais efetivo da praga visada.

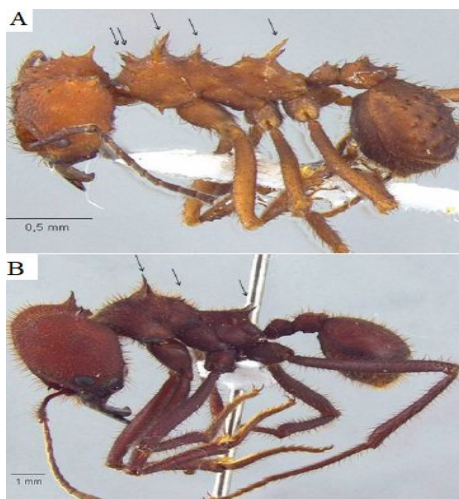
Estudos básicos que caracterizam a virulência desses fungos são importantes para a seleção de um novo agente a ser explorado no controle biológico de vários insetos-praga, incluindo a formiga cortadeira. A perspectiva da real patogenicidade dos fungos entomopatogênicos contra a formiga cortadeira e o desenvolvimento de novas tecnologias para a aplicação desses produtos biológicos poderão contribuir para o controle mais efetivo, para minimizar os danos causados e uma possível erradicação da formiga cortadeira em cultivos agrícolas e florestais. Portanto, o nosso objetivo foi avaliar a ação de cinco diferentes isolados fúngicos entomopatogênicos sobre formigas cortadeiras em laboratório, visando contribuir para o desenvolvimento de alternativas mais eficazes e menos danosas ao ambiente para o controle desse inseto-praga.

## 2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

### 2.1. Formigas cortadeiras

As formigas dos gêneros *Atta* (saúvas) e *Acromyrmex* (quenquéns) (Formicidae, Myrmicinae, Attini) são popularmente conhecidas como “formigas cortadeiras” (RIBEIRO et al., 2012; ARAÚJO et al., 2015; DIEHL et al., 2017). As saúvas caracterizam-se pela presença de três pares de espinhos dorsais, enquanto que as quenquéns apresentam quatro ou mais pares de espinhos dorsais (**Figura 01**) (TRAVAGLINI et al., 2017).

**Figura 01.** Formigas cortadeiras. (A) Formiga do gênero *Acromyrmex*. (B) Formiga do gênero *Atta*, destacando-se o número de espinhos dorsais.



Fonte: Taxonline - Rede Paranaense de Coleções Biológicas, UFPR.  
Retirado de FILHO et al. (2013).

As formigas cortadeiras estão presentes na maioria dos *hábitats* neotropicais. Possuem o hábito de cortar matéria vegetal como folhas, flores e frutos de diferentes espécies de plantas, que são pré-processados em pequenos pedaços e transportados para o formigueiro, onde são utilizados como substrato para o cultivo de fungos (ABREU; DELABIE, 1986; FARJI-BRENER; MEDINA, 2000; HAEDER et al., 2009; FRANCO et al., 2013; LEAL et al., 2014; MATTE et al., 2016; DIEHL et al., 2017). As formigas preferem as partes mais jovens e macias das plantas, além de folhagens ricas em água, nitrogênio e fósforo, com pouca fibra e manganês (RANDO; FORTI, 2005; RODRÍGUEZ et al., 2008).

Ao conjunto fungo-substrato dá-se o nome de “jardim de fungo” (DORNELAS et al., 2016). Os jardins de fungos estão localizados em câmaras subterrâneas no formigueiro (RODRIGUES et al., 2014). O fungo cultivado é um Basidiomiceto e pertence ao gênero *Leucoagaricus*, desenvolvendo-se adequadamente em condições de alta umidade e temperatura entre 20 °C a 30 °C (DELLA LUCIA et al., 2014; ROMER et al., 2017).

Existe uma relação de mutualismo entre as formigas e o fungo, que se originou há mais de 50 milhões de anos, na qual um não pode sobreviver sem o outro (SANTOS; CAZETTA, 2016). O fungo possui enzimas capazes de degradar a biomassa vegetal, tornando acessíveis nutrientes que antes estavam indisponíveis (AYLWARD et al., 2013; VIGUERAS et al., 2017). Parte dos produtos liberados durante esse processo é consumido pelo fungo, suprimindo suas demandas de energia e de nutrientes, além de possibilitar a produção de estruturas especializadas chamadas *gongylidias*, que servem de alimento para as formigas. As *gongylidias* contêm uma mistura de carboidratos, aminoácidos, proteínas, lipídeos e vitaminas (SUEN et al., 2011; VIGUERAS et al., 2017). As larvas das formigas e a rainha se alimentam de *gongylidias* e das hifas fúngicas, enquanto que as operárias se nutrem de modo misto, com o fungo representando cerca de 9 % de suas necessidades nutricionais, sendo o restante, obtido a partir de açúcares adicionais presentes na seiva das plantas, que são consumidos durante o corte de folhas. A importância do fungo como alimento para as larvas se deve ao fato de que estes possuem os nutrientes necessários para o desenvolvimento adequado das larvas (ROCKWOOD; HUBBELL, 1987; LUNA, 1996; POULSEN et al., 2002; KOST et al., 2007; MASIULIONIS, 2013; SANTOS; CAZETTA, 2016). As formigas, por sua vez, nutrem o fungo com fragmentos de folhas, proporcionam um ambiente favorável para o seu crescimento e protegem-no contra competidores e organismos invasores. Além disso, garantem a sua propagação quando fêmeas aladas carregam pequenas porções do fungo para novas colônias (BOT et al., 2002; SANTOS et al., 2004; DUARTE et al., 2014).

O fungo cultivado é essencial para a sobrevivência e para a arquitetura da colônia das formigas (ZANETTI et al., 2014). Por esse motivo, as formigas desenvolveram diferentes estratégias que auxiliam na manutenção da integridade do fungo. Entre elas, uma limpeza meticulosa dos ninhos e dos fragmentos de folhas utilizados como substrato, com o intuito de remover esporos fúngicos e bactérias; intenso comportamento de *auto-grooming* (autolimpeza) e *allogrooming* (limpeza e lambadura entre diferentes indivíduos na colônia); e secreção de substâncias antimicrobianas produzidas por suas glândulas metapleurais (ARISMENDY; PERALTA, 2002; BOT et al., 2002; SOUZA et al., 2003; RODRIGUES et al., 2008; SCHOENIAN et al., 2011; RIBEIRO et al., 2012; DELLA LUCIA et al., 2014).

Além disso, as formigas mantêm uma associação com bactérias filamentosas (Actinomicetos) presentes em seus tegumentos, que são capazes de produzir metabólitos secundários que protegem tanto as formigas quanto os jardins contra micro-organismos patogênicos. Sabe-se que esses metabólitos inibem o crescimento de um fungo parasita pertencente ao gênero *Escovopsis*, que destrói o cultivo fúngico alimentício. Por sua vez, o crescimento dessas bactérias é mantido, aparentemente, através da secreção de nutrientes por glândulas cuticulares especializadas. Os actinomicetos predominantes pertencem ao gênero *Pseudonocardia* (DELLA-LUCIA et al., 1995; JÚNIOR et al., 2001; CURRIE et al., 2003; CAFARO et al., 2011; DÂNGELO, 2011; RODRIGUES et al., 2014; GÓMEZ, 2017).

Uma grande diversidade de micro-organismos simbiotes pode ser encontrada nos jardins de fungos, os quais podem desempenhar funções diversas, como defesa contra patógenos e promoção do crescimento do fungo cultivado por meio da fixação do nitrogênio (SCHOENIAN et al., 2011). Algumas comunidades bacterianas, aparentemente, também auxiliam o fungo do jardim a degradar o substrato vegetal (SUEN et al., 2011).

Os ninhos das formigas cortadeiras são formados por um sistema de túneis e câmaras subterrâneas, que podem atingir profundidades tão grandes quanto sete metros e são capazes de abrigar milhões de indivíduos (KLEINEIDAM et al., 2001; MEYER et al., 2013). Durante a construção das câmaras, as operárias retiram o solo e depositam-no na superfície, formando um monte de terra solta (**Figura 02**) (MOREIRA et al., 2007). Além das câmaras que são utilizadas para o cultivo do fungo, existem câmaras adicionais onde são depositadas formigas mortas, fungo exaurido, detritos e restos orgânicos que são removidos dos jardins de fungos (FARJI-BRENER; MEDINA, 2000; MOUTINHO et al., 2003; SOARES et al., 2006).

**Figura 02.** Ninho de formigas cortadeiras.



Fonte: Autora (2017).

As formigas cortadeiras são insetos eusociais, possuindo um alto nível de organização social, na forma de um sistema de castas, onde os indivíduos desempenham funções específicas (TEIXEIRA et al., 2014). As castas permanentes são formadas pela rainha e pelas operárias. A rainha corresponde à fêmea fértil que perdeu as asas após o vôo nupcial. Possui um tamanho corporal maior em relação às demais e pode viver por muitos anos, em alguns casos, vinte anos ou mais. Durante o pareamento com o macho, a rainha armazena esperma suficiente para a fertilização de ovos pelo resto de sua vida. Só existe uma rainha por colônia. As operárias, por sua vez, são estéreis e polimórficas e incluem os soldados, responsáveis pela defesa da colônia, as jardineiras que trabalham nos jardins de fungos, as cortadeiras e carregadeiras, responsáveis pelo corte e transporte do material vegetal, as enfermeiras, responsáveis por cuidar dos ovos, larvas e pupas e as lixeiras, responsáveis por colocar o lixo gerado em câmaras separadas para evitar possíveis contaminações. As castas temporárias são formadas por rainhas virgens e machos alados que aparecem durante o período reprodutivo. Em determinada época do ano, os machos e fêmeas alados abandonam a sua colônia de origem para fundar novas colônias, sendo responsáveis pela perpetuação da espécie. A dispersão para o acasalamento ocorre em condições de precipitação, temperatura, umidade e velocidade do vento favoráveis. Os machos morrem logo após a cópula. Antes do vôo nupcial, as fêmeas levam consigo um pedaço do fungo no seu saco infrabucal, o que permitirá formar um novo cultivo fúngico (ARAÚJO et al., 2003; FORTI et al., 2004; LERMA et al., 2006; ALVES-FAVA et al., 2011; CAMARGO et al., 2013; ESTRADA; SERMEÑO-CHICAS, 2013; GÓMEZ, 2017).

### **2.1.1. Formigas cortadeiras: importância ecológica**

As formigas cortadeiras, quando em equilíbrio com o ambiente, são muito importantes do ponto de vista ecológico, atuando em diversos níveis dentro de um ecossistema. São chamadas “engenheiras de ecossistemas”, em virtude da sua capacidade de modificar as estruturas física, química e biológica do seu próprio ambiente. As formigas promovem a aeração do solo ao remover grandes quantidades de terra para a construção de câmaras e túneis do formigueiro, melhoram substancialmente a penetrabilidade do solo, disseminam sementes, aceleram a ciclagem dos bioelementos e aumentam a disponibilidade de nutrientes no solo através da acumulação de material vegetal rico em nutrientes. Alguns estudos relatam que o nível de nutrientes disponíveis no solo onde as formigas nidificam é maior em comparação ao de zonas adjacentes aos formigueiros. Além disso, as câmaras de resíduos

presentes nos ninhos das formigas cortadeiras podem servir como *hábitat* para algumas espécies (HAINES, 1978 apud VITTAR, 2008; DAUBER; WOLTERS, 2000 apud SANTOS, 2016; GRUBER; VALDIX, 2003; CORRÊA et al., 2010; SALINAS; DÍAZ, 2011; ALVIRA, 2014; ALVIRA; ACOSTA, 2015; TRAVAGLINI et al., 2017).

### **2.1.2. Formigas cortadeiras: importância econômica**

As formigas cortadeiras constituem uma das principais pragas agrícolas e florestais do Neotrópico, em virtude da sua abundância, ampla distribuição e das perdas econômicas que provocam ao desfolharem parcialmente ou totalmente culturas de importância agrícola para alimentar o fungo mutualista que cultivam. São consideradas herbívoros dominantes do Neotrópico, uma vez que consomem muito mais vegetação do que qualquer outro grupo de animais de diversidade taxonômica comparável, realizando a sua ação prejudicial durante todo o ano. Os prejuízos causados pelas mesmas variam de acordo com a idade da planta e da intensidade do ataque. Em determinadas regiões, certos cultivos podem ser descartados, uma vez que as formigas não os deixam prosperar. Os danos provocados pelas formigas à agricultura chegaram a ser estimados em cerca de 1 bilhão de dólares por ano. Além do dano direto causado às plantas, os ninhos das formigas cortadeiras podem reduzir o acesso às plantações e, também, danificar estradas (HÖLDOBLER; WILSON, 1990 apud MASON et al., 2017; DELLA-LUCIA, 2003; LOECK et al., 2003; SANTOS et al., 2007b; AUBAD, 2010 apud CELIS, 2013; CASTILHO et al., 2010; FILHO et al., 2011b; ESTRADA et al., 2013; FARDER-GOMES et al., 2017; OLIVEIRA et al., 2017).

### **2.1.3. Controle de formigas cortadeiras**

O controle de formigas cortadeiras pode ser feito por meio do emprego de métodos biológicos, culturais, mecânicos e químicos (BOARETTO; FORTI, 1997).

#### **2.1.3.1. Métodos biológicos**

De um modo geral, o controle biológico pode ser definido como o uso racional de predadores, parasitóides e patógenos para regular a densidade populacional de pragas, evitando que as mesmas atinjam níveis capazes de provocar prejuízo econômico (BALE et al., 2008; SIMONATO et al., 2014).

Os predadores, parasitóides e patógenos são chamados de “inimigos naturais” e diminuem a densidade populacional e o potencial de reprodução de espécies daninhas, reduzindo, por conseguinte, os danos que estas causam aos cultivos (LEÓN, 2005).

A utilização com sucesso desse método depende do conhecimento da biologia e ecologia das pragas, assim como dos inimigos naturais (VAN DEN BOSCH et al., 1982 apud GASSEN; TAMBASCO, 1983).

Os predadores podem ser definidos como organismos de vida livre que atacam, matam e se alimentam de muitos indivíduos durante o seu ciclo de vida. Geralmente, são maiores que as presas (BASTOS; TORRES, 2003; OLIVEIRA et al., 2006). Um exemplo de predador são os insetos pertencentes à família Coccinellidae, conhecidos popularmente como joaninhas. As joaninhas têm sido empregadas no controle biológico de pragas primárias e secundárias da agricultura, entre elas, pulgões, cochonilhas, mosca-branca, lagartas desfolhadoras, entre outras (GUERREIRO, 2004).

Os parasitóides são organismos cujos estágios imaturos se desenvolvem às expensas de um hospedeiro, causando a morte do mesmo ou fazendo com que este seja incapaz de gerar progênie (BRECHT, 2004; BADII; ABREU, 2006; CRUZ et al., 2011; ROSSI, 2012). Os parasitóides das pragas agrícolas são, principalmente, dípteros ou himenópteros (GONZALES, 2017). Geralmente, parasitam um único hospedeiro durante o seu ciclo de vida. O hospedeiro pode ser o ovo, a larva ou a pupa das pragas (BASTOS; TORRES, 2003; CRUZ et al., 2011). Um exemplo de parasitóide é a vespa *Trichogramma* sp. A fêmea adulta realiza a oviposição no interior dos ovos da praga. Após algum tempo, eclodem larvas que se nutrem do conteúdo dos ovos do hospedeiro e que se desenvolvem, dando origem a vespas adultas que continuarão o ciclo (CRUZ, 2007).

Os entomopatógenos são micro-organismos que provocam enfermidades nos insetos. Esse grupo é muito diverso e inclui as bactérias, os vírus, os fungos, os nematóides e os protozoários. Cada um desses subgrupos varia na sua maneira de infectar e no mecanismo patogênico (BADII; ABREU, 2006; CANTÚ-RUIZ et al., 2017). Alguns patógenos possuem um espectro de hospedeiros amplo, enquanto outros preferem certas espécies de insetos (CANTÚ-RUIZ et al., 2017).

#### **2.1.3.2. Métodos culturais**

Um exemplo desse tipo de controle é o revolvimento do solo (aração e gradeação) para eliminar ninhos iniciais de formigas cortadeiras (MIRANDA; ARAÚJO, 2003; FILHO et al.,



2013). Outro exemplo é a utilização de plantas atraentes próximo às culturas, as quais servem de alimento alternativo para as formigas ou funcionam como “armadilhas”, evitando que as mesmas ataquem as plantações (FILHO et al., 2011a).

#### **2.1.3.3. Métodos mecânicos**

O controle mecânico é, geralmente, pouco utilizado (MORESSI et al., 2007). Um exemplo é a remoção mecânica dos ninhos por meio de pás. Durante esse procedimento, cria-se uma crise interna na colônia, podendo ocasionar a morte da rainha e de parte da cria ou, até mesmo, tornando o ninho mais susceptível a predadores ou enfermidades (MONTROYA-CORREA et al., 2007). Outro exemplo desse tipo de controle é a utilização de barreiras físicas, como cones plásticos invertidos, gel adesivo ou tiras de plástico cobertas com graxa que são fixadas nos troncos das plantas e impedem que as formigas cortadeiras tenham acesso à parte aérea, onde se localizam as folhas, flores e frutos (NAVA et al., 2009; ALMEIDA et al., 2013).

#### **2.1.3.4. Métodos químicos**

Atualmente, é o método de controle mais empregado, destacando-se o uso de iscas granuladas, pós-secos, pós-solúveis e termonebulização (LINK et al., 2000; TORRES et al., 2013; ARAÚJO et al., 2015).

As iscas tóxicas são amplamente utilizadas devido ao baixo custo e a facilidade de aplicação (FILHO et al., 2007). Consistem em um substrato atrativo, geralmente polpa cítrica desidratada, impregnada com inseticida (PERRI et al., 2017). O inseticida adequado deve possuir ação retardada, ser letal em baixa concentração e atuar por ingestão (FORTI et al., 2003). As iscas são depositadas próximo às trilhas das formigas e das entradas dos ninhos. A eficiência das iscas depende do substrato atrativo e do princípio ativo tóxico utilizado, do tamanho dos grânulos, além da capacidade das formigas em localizá-las e transportá-las para o interior da colônia. Caso as iscas não sejam suficientemente atrativas, podem não ser transportadas pelas formigas (FILHO; OLIVEIRA, 2002; RAMOS et al., 2006; DELLA-LUCIA et al., 2014; GANDRA et al., 2016).

A termonebulização é um processo indicado para grandes áreas, sendo feito por meio de aparelhos apropriados, denominados termonebulizadores (CRUZ et al., 1984). Esse método consiste na atomização de um formicida, veiculado em querosene, óleo diesel ou óleo

mineral, por meio do calor, resultando em uma fumaça tóxica, que é aplicada dentro do formigueiro. Na maioria das vezes, até a saturação do mesmo, ou seja, até a fumaça aplicada em uma das aberturas do formigueiro sair pelas demais (SILVA et al., 2008; BUENO, 2013). Pode ser empregado em qualquer época do ano, em terrenos secos ou encharcados, possuindo alta eficiência. Contudo, apresenta maior risco de contaminação do ambiente, bem como do próprio operador em virtude da exposição ao produto (SANTOS et al., 2007a; ZANETTI et al., 2008; TRAVAGLINI et al., 2017).

Entre as vantagens do controle químico, pode-se citar a praticidade, eficiência, rapidez e baixo custo (LENTEREN; WOETS, 1988; GHINI; BETTIOL, 2000; LIMA et al., 2011). Existem, contudo, alguns aspectos desfavoráveis associados aos métodos químicos como, por exemplo, contaminação do meio ambiente, seleção de populações resistentes, intoxicação de seres humanos e animais, baixa especificidade, eliminação de predadores naturais, o fato de que os inseticidas químicos podem ser incorporados à cadeia alimentar, entre outros, tornando necessária a busca por métodos de controle que conciliem eficiência, economia e segurança (CANTARELLI et al., 2005; ALMEIDA et al., 2007; CASTILHO et al., 2010; ALMEIDA et al., 2013).

## **2.2. Controle biológico de pragas com fungos entomopatogênicos**

Os fungos entomopatogênicos são capazes de regular, naturalmente, as populações de insetos (DÍAZ et al., 2006). Estima-se que cerca de 80 % das enfermidades que acometem os insetos têm como agente causal os fungos (BADII; ABREU, 2006).

Os fungos entomopatogênicos foram os primeiros agentes biológicos a serem utilizados no controle de pragas (DELGADO; MURCIA-ORDOÑEZ, 2011). Louis Pasteur e Agostino Bassi foram um dos primeiros cientistas a reconhecerem o potencial da utilização de micro-organismos para controlar insetos-praga e, em meados da década de 1870, essa noção de controle microbiano foi expressa por vários entomologistas proeminentes. Foi Metchnikoff quem demonstrou na prática que um fungo entomopatogênico podia infectar um inseto-praga no solo e aplicou o fungo para o controle de insetos (TANADA; KAYA, 1993).

Os fungos entomopatogênicos possuem um largo espectro de ação, podendo colonizar diversas espécies de moscas, gafanhotos, afídeos, lagartas, besouros etc., sendo utilizados como agentes no controle biológico de espécies de insetos considerados economicamente importantes. O solo constitui o seu principal reservatório (VELÁSQUEZ et al., 2007; VALICENTE, 2009; SCHAPOVALOFF et al., 2015).

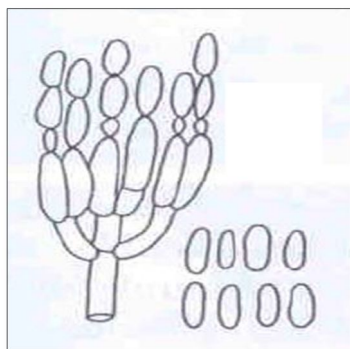
*Metarhizium*, *Beauveria*, *Paecilomyces*, *Aspergillus*, *Verticillium* e *Aschersonia* estão entre os principais gêneros de fungos entomopatogênicos e atuam como um mecanismo regulador das populações de insetos nos ecossistemas (MONZÓN, 2001; CASTILLO et al., 2012). Dentre esses, destacam-se *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana*. São duas espécies fúngicas entomopatogênicas mais bem estudadas e têm demonstrado um grande potencial como agentes de controle microbiano, sendo amplamente utilizadas no controle de pragas em diversas culturas como café, cana-de-açúcar, banana, entre outras (MOINO JR. et al., 2002; POTRICH et al., 2009).

*Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin é patogênico para mais de 204 espécies de insetos, pertencentes às ordens Orthoptera, Lepidoptera, Hymenoptera, Coleoptera, entre outras, provocando o que se conhece como “muscardine verde” nos insetos. Esse fungo se encontra amplamente distribuído pelo mundo e foi isolado por Metchnikoff em 1879 do besouro *Anisoplia austriaca*. Foram descritas duas variedades, *M. anisopliae* var. *anisopliae* e *M. anisopliae* var. *majus*, que se diferenciam uma da outra pelo tamanho de seus conídios (GUERRERO et al., 2000; GUTIÉRREZ; SALDARRIAGA, 2004; BAUTISTA-GÁLVEZ; GONZÁLEZ-CORTES, 2005; DAMIN et al., 2011).

Os conidióforos de *M. anisopliae* são simples. Os conídios são ovalados a cilíndricos e truncados em ambas as extremidades. Em cada conidióforo, se forma uma cadeia de conídios basipetala, as quais crescem densas e aderidas umas às outras, formando massas prismáticas de colunas (**Figura 03**). As fiálides são clavadas ou cilíndricas. Na variedade *anisopliae*, os conídios possuem de 3,5 a 9 µm de comprimento, enquanto que na variedade *majus*, os conídios possuem de 9 a 18 µm de comprimento. As colônias de *M. anisopliae* apresentam formas variadas e, no início do crescimento, apresentam uma coloração branca. As colônias maduras, por sua vez, tornam-se amareladas, verde oliváceas ou verde escuras (ALVES, 1998; GUERRERO et al., 2000; GUTIÉRREZ; SALDARRIAGA, 2004; GOMEZ et al., 2008; STERLING et al., 2011).

O processo de penetração do fungo no tegumento do inseto, colonização, infecção generalizada e morte do hospedeiro ocorre, geralmente, entre três a dez dias após o contato (MELO et al., 2007). Os hospedeiros acometidos por este fungo tornam-se mumificados e apresentam-se cobertos por uma camada pulverulenta formada pela aglomeração de conídios, podendo apresentar colorações variadas, desde verde claro à verde escuro, acinzentados ou, até mesmo, esbranquiçados com pontos verdes (ALVES, 1998; ALBUQUERQUE et al., 2005; OTTATI-DE-LIMA, 2007).

**Figura 03:** Conidióforo e conídios de *Metarhizium anisopliae*.



Fonte: ALVES (1998).

No Brasil, *M. anisopliae* tem sido estudado sobre várias pragas, dentre as quais, a *Mahanarva posticata* (cigarrinha-da-cana), *Diatraea saccharalis* (broca-da-cana), *Hypothenemus hampei* (broca-do-café), *Nezara viridula* (percevejo-verde da soja), entre outras (DAMIN et al., 2011).

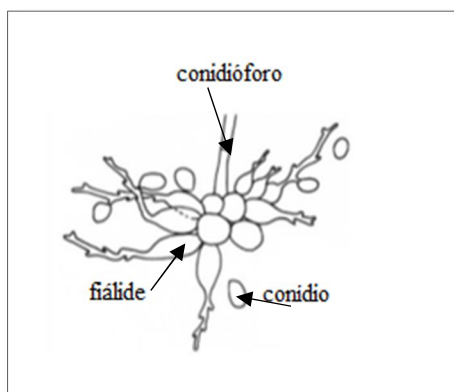
*Beauveria bassiana* Balls. (Vuill.) foi descoberta por Agostino Bassi em 1835 e é uma espécie cosmopolita que habita naturalmente o solo (XIAO et al., 2012; MASCARIN; JARONSKI, 2016). É conhecida por causar a “muscardine branca” nos insetos (PAULI et al., 2011). Possui uma variedade de hospedeiros, que inclui espécies de insetos vetores, pragas agrícolas e insetos invasores pertencentes às ordens Coleoptera, Diptera, Lepidoptera e Hemiptera (GHIKAS et al., 2010; PEDRINI et al., 2013; HUANES-CARRANZA; WILSON-KRUGG, 2016).

É um dos fungos mais utilizados em programas de controle de pragas, em virtude da sua eficiência e fácil multiplicação. Nos Estados Unidos, *B. bassiana* tem sido utilizada no controle de adultos de *Plectrodera scalator*, atingindo taxas de mortalidade acima de 60 % (LEITE et al., 2011). Na China, estima-se que cerca de um milhão de hectares sejam tratados por ano com *B. bassiana*, com o intuito de controlar insetos, entre eles a lagarta *Dendrolimus punctatus* (BARBOZA et al., 2011; XIAO et al., 2012). Após a sua liberação, *B. bassiana* pode persistir no solo por períodos de tempo que variam de 15 dias a 1 ano (LEITE et al., 2011).

A colônia de *B. bassiana* possui um aspecto algodonoso a pulverulento e, normalmente, apresenta coloração branca, podendo variar até branco-amarelada. Os conidióforos são simples e irregulares (**Figura 04**). As fiálides apresentam base globosa ou volumosa, sendo mais delgadas na parte superior, formando um esterigma curvado, em forma

de zig-zag. Os conídios são hialinos e lisos, redondos a ovóides e unicelulares (GOMEZ et al., 2008; GONZÁLEZ-CASTILLO et al., 2012; RODRIGUES et al., 2016).

**Figura 04.** Conidióforo e conídios de *Beauveria bassiana*.



Fonte: CASTILLO et al. (2013), modificada.

O micélio e os conídios de *B. bassiana* cobrem o corpo ou os espaços articulares dos insetos atacados com uma capa de coloração branca (CASTILLO et al., 2012).

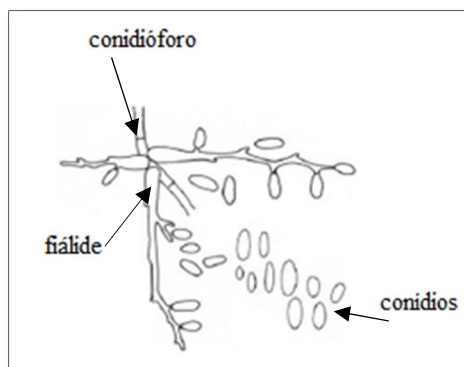
*Beauveria brongniartii* (Sacc.) Petch (Hypocreales: Cordycipitaceae) é a segunda espécie mais comum do gênero *Beauveria*, sendo encontrada especialmente no solo (GHIKAS et al., 2010; MAYERHOFER et al., 2015; SABBOUR; ABDEL-RAHEEM, 2015).

*B. brongniartii* é um patógeno natural dos Coleoptera: Scarabaeidae (PIATTI et al., 1998). Tem sido utilizada como um agente no controle biológico de *Melolontha melolontha* L. (Coleoptera: Scarabaeidae), cujas larvas e adultos causam danos consideráveis a uma variedade de culturas na Europa Central, ao se alimentarem das raízes e das folhas das plantas, sendo considerados pragas na agricultura (CRAVANZOLA et al., 1997; KESSLER et al., 2004; DOLCI et al., 2006; FATU et al., 2015; SIERPIŃSKA et al., 2015).

Vários produtos biológicos baseados no fungo *B. brongniartii* foram comercializados na Europa como, por exemplo, o Melocont®–Pilzgerste, *Beauveria brongniartii* Myzel e o *Beauveria* Schweizer, Engerlingspilz (FATU et al., 2015).

A colônia é algodonosa a pulverulenta. Inicialmente, apresenta uma coloração branca e, à medida que envelhece, pode apresentar um tom de “amarelo pálido”. Os conidióforos são escassos e raramente em cachos (**Figura 05**). As células conidiogênicas têm o formato de “garrafas” sub-globosas ou alargadas e os conídios são elipsóides (ALVES, 1998; FLORES, 2003; CAÑEDO; AMES, 2004; SVEDESE, 2012).

**Figura 05.** Conidióforo e conídios de *Beauveria brongniartii*.



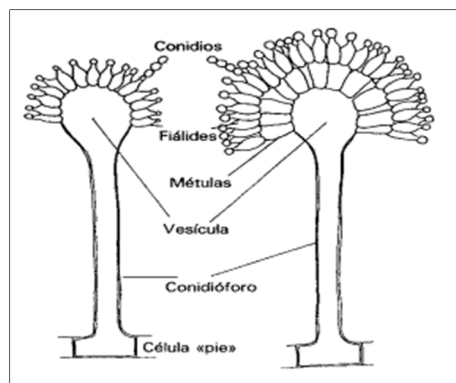
Fonte: CASTILLO et al. (2013), modificada.

O gênero *Aspergillus* engloba mais de 200 espécies, algumas das quais são capazes de produzir metabólitos secundários com grande potencial entomopatogênico e entomotoxigênico (MORAES et al., 2001; LOPES et al., 2004). Espécies como *A. flavus* e *A. parasiticus*, por exemplo, têm sido utilizadas no controle de mosquitos (*Culex quinquefasciatus*) devido ao efeito larvicida de seus metabólitos. Os conídios de *A. clavatus* também demonstraram ser eficientes contra mosquitos (SEYE et al., 2014).

Macroscopicamente, as colônias de *Aspergillus* apresentam uma coloração branca na fase inicial de maturação, podendo, posteriormente, evoluir para amarelo, castanho, preto ou verde, dependendo da espécie (CARVALHO, 2013). O micélio vegetativo é composto por hifas septadas que se ramificam dicotomicamente em ângulos de 45° (LOPES et al., 2004). O conidióforo do *Aspergillus* é formado pela célula-pé, geralmente em forma de “L” ou “T”, pela haste (estipe) e pela vesícula (**Figura 06**). Sobre a vesícula, estão presentes as células conidiogênicas, métulas e/ou fiálides, responsáveis por promover a reprodução assexuada através da produção de conídios (fialoconídios), estes, por sua vez, são hialinos, globosos, unicelulares e se apresentam dispostos em cadeias (ABARCA, 2000; XAVIER et al., 2008; SILVA, 2009; COSTA et al., 2014; REIS; ROCHA, 2014).

Caso as cabeças conidiais possuam as fiálides inseridas diretamente na vesícula, são classificadas como “unisseriadas”. Quando existir uma segunda camada de células (métulas) interligando as fiálides à vesícula, as cabeças conidiais são classificadas como “bisseriadas” (LIRA, 2014).

**Figura 06.** Conidióforo e conídios de *Aspergillus* sp.



Fonte: MINTER et al. (1985); KLICH; SAMSON (1996). Retirado de ABARCA (2000).

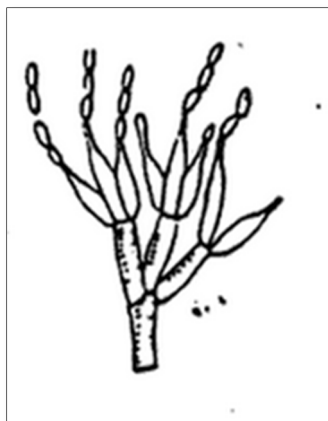
O gênero *Paecilomyces* foi descrito em 1907 e reúne várias espécies entomopatogênicas, entre elas *P. farinosus* e *P. fumosoroseus*, sendo responsável pela doença “muscardine amarela” nos insetos (SANTOS, 2003; LOPES, 2007).

*P. farinosus* (Holm ex S. F. Gray) Brown & Smith é um fungo cosmopolita que parasita diversos insetos pertencentes às ordens Lepidoptera, Diptera, Coleoptera, Hymenoptera e Hemiptera (LOPES, 2007).

*P. fumosoroseus* (Wize) Brown & Smith é uma das espécies mais importantes do gênero. É um patógeno que possui um amplo espectro de hospedeiros e uma ampla distribuição geográfica, sendo patogênico para mais de 40 espécies de insetos, incluindo lepidópteros, coleópteros, dípteros, homópteros e isópteros. Pode ser isolado a partir do solo ou de insetos (PÉREZ et al., 2003; SANTOS; NÚÑEZ, 2003; JACKSON et al., 2004; GONZÁLEZ-CASTILLO et al., 2012). *P. fumosoroseus* tem sido utilizado com êxito como um agente no biocontrole da mosca-branca (Hemiptera: Aleyrodidae) e de outros insetos-praga. Além disso, dois tipos de propágulos podem ser utilizados para formulações de *P. fumosoroseus*, blastósporos (produzidos em meio líquido) e conídios (produzidos em meio sólido) (VEGA et al., 1999; CASTELLANOS-MOGUEL et al., 2008).

A colônia pode apresentar cor esbranquiçada, amarela, avermelhada ou rósea. Os conidióforos de *Paecilomyces* sp. podem ser simples ou em sinema, verticilados e com fiálides longas (**Figura 07**). Os conídios se originam na extremidade das fiálides, formando cadeias longas, podem ser elípticos a fusiformes, hialinos ou pigmentados (ALVES, 1998; LOPES, 2007; FAIA, 2011).

**Figura 07.** Conidióforo e conídios de *Paecilomyces* sp.



Fonte: HIDALGO (1999).

O controle biológico com fungos entomopatogênicos constitui uma tecnologia bastante promissora, em que são utilizados isolados muito eficazes e os principais propágulos fúngicos utilizados nessa prática são os conídios, os blastósporos ou o micélio (PARI et al., 2015; LEITE et al., 2003 apud SCHAMNE, 2010).

### **2.3. Mecanismos biológicos da ação dos fungos entomopatogênicos sobre os hospedeiros**

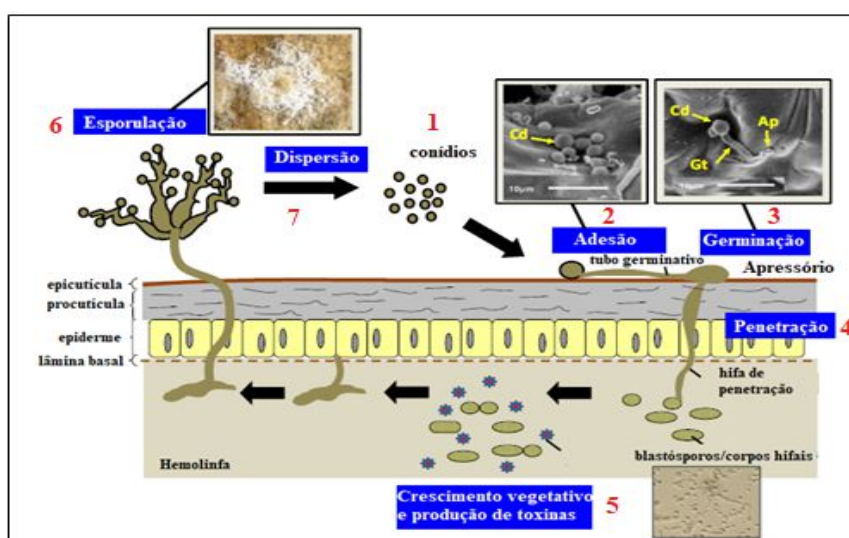
Existem quatro rotas principais de infecção: através do tegumento, da cavidade bucal, dos espiráculos e de outras aberturas externas no inseto. O sítio exato da infecção depende do fungo, do inseto e das condições existentes como umidade e temperatura (MADELIN, 1963; TÉLLEZ-JURADO et al., 2009). De modo geral, o mecanismo de ação dos fungos entomopatogênicos inclui os seguintes estágios: adesão, germinação, formação de apressórios, formação de estruturas de penetração, penetração, colonização e reprodução (GARCÍA et al., 2008) (**Figura 08**). A adesão, germinação e penetração são processos altamente importantes para o início do ciclo patogênico e ocorrem durante as primeiras horas após o contato entre o hospedeiro e o patógeno (LECUONA et al., 2005). A duração das diferentes etapas do ciclo do fungo depende da espécie e, também, das condições ambientais existentes durante a infecção (CASTILLO et al., 2012).

Inicialmente, ocorre a adesão de conídios viáveis à cutícula do inseto. Essa interação conídio-cutícula envolve a ação de glicoproteínas, enzimas extracelulares, forças eletrostáticas e forças hidrofóbicas. Além disso, muitos fungos entomopatogênicos possuem os conídios



revestidos por uma matriz mucilaginosa que favorece a sua adesão à cutícula (EVANS, 1993; CASSIANO et al., 2008; GARCÍA et al., 2008).

**Figura 08.** Visão geral do ciclo de infecção do fungo *Beauveria bassiana* em um invertebrado.



Fonte: MASCARIN; JARONSKI (2016), modificada.

A germinação ocorre quando o conídio encontra condições favoráveis (umidade, temperatura e requerimentos nutricionais na cutícula) e tem início com o inchamento do mesmo (DÍAZ et al., 2006; MARANHÃO; MARANHÃO, 2008; 2009). Depois do inchamento do conídio, tem início a formação do tubo germinativo, o qual rastreia e reconhece a superfície do inseto. Posteriormente, o tubo germinativo sofre alterações morfológicas, formando o apressório. Os apressórios são inchamentos na região apical dos tubos germinativos, onde ocorre uma elevada atividade metabólica, devido à produção de enzimas. O apressório atua também na ancoragem dos conídios e exerce pressão para o interior do inseto. A partir do apressório, forma-se o grampo de penetração, uma estrutura afilada, que fica em contato com a cutícula e que dá início ao processo de penetração (TIAGO; FURLANETO, 2003; DÍAZ et al., 2006; RODRÍGUEZ-DEL-BOSQUE; ARREDONDO-BERNAL, 2007; CARRILLO-RAYAS; BLANCO-LABRA, 2009; ZHANG et al., 2010; VERÍSSIMO, 2015).

Na penetração, estão envolvidos mecanismos físicos e químicos. O primeiro consiste na pressão mecânica exercida pelas estruturas de penetração, que rompe áreas membranasas ou pouco esclerotizadas. O segundo consiste na produção e liberação de enzimas hidrolíticas,

principalmente, proteases, lipases e quitinases. A combinação desses fatores faz com que a cutícula fique fragilizada, permitindo que o fungo a atravesse e tenha acesso à cavidade geral do corpo do inseto (MONZÓN, 2001; MARANHÃO; MARANHÃO, 2008; 2009; GAJARDO et al., 2012; GIMENES et al., 2014). Uma vez dentro da hemocele, a hifa se alarga e ramifica dentro do tecido do hospedeiro, produzindo blastósporos, estruturas unicelulares ou multicelulares que perdem a parede celular, porém que possuem uma capa fibrilar delgada na membrana plasmática, sendo responsáveis pela nutrição do fungo por meio da degradação de fontes de carbono presentes na hemolinfa do inseto (MARANHÃO; MARANHÃO, 2008; 2009; RAMÍREZ et al., 2014; VERÍSSIMO, 2015). Ao consumir os nutrientes, o fungo dá início ao processo de crescimento micelial, disseminando-se dentro do hospedeiro através da circulação (COVA et al., 2009; AGALI et al., 2017).

O ataque ao inseto hospedeiro envolve tanto a infecção direta pelo fungo quanto a ação de metabólitos secundários por ele produzidos, alguns dos quais são tóxicos para os insetos. Os metabólitos tóxicos incluem enzimas extracelulares, proteínas e compostos de baixo peso molecular. Entre as toxinas produzidas por fungos entomopatogênicos, destacam-se as destruxinas produzidas por *M. anisopliae* e a beauvericina produzida por *B. bassiana* (MARANHÃO; MARANHÃO, 2008; 2009; FAN et al., 2013a; FAN et al., 2013b; MORA et al., 2016). Alguns fungos, aparentemente, não possuem toxinas e matam o inseto ao consumirem todos os seus nutrientes (RAMÍREZ et al., 2014).

Após infectados pelo fungo, os insetos podem apresentar sintomas como manchas escuras, convulsões, falta de coordenação, paralisia e comportamentos alterados. O inseto cessa a sua alimentação, tornando-se debilitado e, visualmente, desorientado. A morte dos mesmos ocorre em poucos dias devido a uma combinação de fatores como esgotamento dos nutrientes, toxinas fúngicas, obstrução física da circulação, invasão de órgãos, bloqueio do aparato digestivo e outros danos físicos em função do crescimento vegetativo do fungo (DIODATO, 1992; POULSEN et al., 2006; MARANHÃO; MARANHÃO, 2008; 2009; TÉLLEZ-JURADO et al., 2009; GAJARDO et al., 2012; FAN et al., 2013a).

A colonização inicia na hemocele, e logo continua para o resto do corpo como, por exemplo, sistema nervoso, sistema digestivo, músculos, traquéia, túbulos de Malpighi e corpos gordurosos (MARTÍNEZ, 2014). O fungo coloniza, praticamente, todos os órgãos e tecidos do inseto (SÁNCHEZ et al., 2001). As hifas, eventualmente, emergem dos cadáveres e estes tornam-se recobertos por uma massa micelial (SÁNCHEZ et al., 2001; AGALI et al., 2017). Caso as condições não sejam favoráveis, o fungo permanece dentro do inseto,

protegido pelo tegumento, podendo sobreviver por algum tempo até que as condições externas sejam adequadas (RAMÍREZ et al., 2014).

A massa micelial contém conidióforos, os quais, através de suas regiões conidiogênicas, dão origem a novos conídios (SÁNCHEZ et al., 2001; SCHAPOVALOFF et al., 2015). Os insetos atacados tornam-se mumificados e passam a apresentar uma coloração característica para cada espécie de fungo. Por exemplo, branca no caso de *B. bassiana* e verde oliva no caso de *M. anisopliae* (PASTOR, 2013). Os conídios podem ser disseminados tanto por agentes abióticos como o vento ou a chuva ou quando indivíduos enfermos entram em contato com indivíduos saudáveis, dando continuidade ao ciclo biológico do fungo (SÁNCHEZ et al., 2001; BADI; ABREU, 2006; SCHAPOVALOFF et al., 2015).

#### **2.4. Vantagens e limitações da utilização de fungos entomopatogênicos no controle biológico de insetos-praga**

Entre as principais vantagens do controle biológico de insetos-praga com fungos entomopatogênicos, pode-se citar o fato de que, geralmente, estes entomopatógenos são bastante específicos, não afetando os seres humanos. Além disso, podem ser facilmente cultivados em massa (HANSON; HILJE, 1993). Outras vantagens incluem o fato de que, ao contrário de outros micro-organismos como as bactérias e os vírus, os fungos entomopatogênicos não necessitam ser ingeridos para serem eficazes. Além disso, atuam sobre uma gama de organismos, sendo capazes, também, de infectar os hospedeiros em diferentes estágios de seu desenvolvimento, tais como ovos, larvas, pupas e adultos, causam baixo impacto sobre o ambiente e sobre a fauna benéfica, possuem uma grande variabilidade genética e apresentam uma alta capacidade para evitar que os hospedeiros desenvolvam resistência. Ademais, a forma de reprodução dos fungos entomopatogênicos confere uma maior persistência ao longo do tempo, visto que o inseto morto se converte em uma nova fonte de inóculo (FRANCE et al., 2000; QUESADA-MORAGA et al., 2006; MELO et al., 2007; DELGADO; MÚRCIA-ORDOÑEZ, 2011; BHAN et al., 2013; GUTIÉRREZ et al., 2016; 2017).

As principais limitações do controle biológico com fungos entomopatogênicos incluem a falta de conhecimento sobre os princípios do método, a falta de pessoal qualificado e a falta de apoio econômico (GUÉDEZ et al., 2008). Outras limitações estão relacionadas ao fato de que os fungos, usualmente, são patógenos de ação lenta, além disso, sua capacidade de infectar um inseto-alvo é influenciada por fatores bióticos e abióticos (CARRILLO-RAYAS;

BLANCO-LABRA, 2009; ECKARD et al., 2017). Fatores como o comportamento, as condições fisiológicas e a idade do hospedeiro, além de altas temperaturas, baixa umidade e a radiação UV, podem comprometer o crescimento e desenvolvimento do fungo sobre o hospedeiro (MARANHÃO; MARANHÃO, 2008; 2009; BOTERO et al., 2009; YÁÑEZ; FRANCE, 2010). Entre os fatores abióticos, a radiação UV é uma das mais importantes, pois pode provocar danos letais ao DNA e mutações, causando atraso na germinação ou a inativação dos conídios, reduzindo desse modo, a atividade bioinseticida (OTTATI-DE-LIMA et al., 2010; ZORZETTI et al., 2014).

## **2.5. Manejo integrado de pragas**

O termo Manejo Integrado de Pragas (MIP) foi criado na metade dos anos 60 e surgiu como uma reação dos pesquisadores ao uso excessivo de inseticidas no combate as pragas (BORJA, 2003; GONZAGA et al., 2009). Pode ser definido como “um processo baseado em decisões envolvendo o uso coordenado de múltiplas táticas para o controle de todas as classes de pragas (insetos, patógenos, ervas daninhas e vertebrados) de uma maneira ecologicamente e economicamente segura” (EHLER, 2006). Além do aspecto ecológico e econômico, no MIP há que se considerar o aspecto sociológico, ou seja, toda e qualquer medida a ser adotada deve buscar o bem-estar da sociedade, uma vez que esta irá consumir os produtos agrícolas produzidos (CARVALHO; BARCELLOS, 2012). Na prática, o MIP consiste em ter o domínio de alguns conhecimentos básicos sobre a correta identificação e o comportamento das pragas, da sua dinâmica populacional, da sua ecologia, da flutuação estacional e mortalidade natural das mesmas (efeito do clima e dos inimigos naturais), entre outros, sendo o monitoramento da praga-alvo o ponto inicial para a escolha do método de controle mais adequado (FILHO et al., 2004; SALVADORI; PEREIRA, 2006; LAURENTIS, 2017). O MIP representa um avanço significativo, pois seu principal objetivo é a utilização mínima de agroquímicos, contribuindo para amenizar os problemas de contaminação ambiental e para diminuir as taxas de resíduos no produto final, melhorando, desse modo, a qualidade de vida tanto dos produtores quanto dos consumidores (FILHO et al., 2004).

A combinação de defensivos químicos e fungos entomopatogênicos pode constituir uma alternativa, na qual espera-se que o agroquímico, em doses subletais, atue como um agente estressor na população-alvo, tornando os insetos mais susceptíveis e aumentando a eficiência do micopatógeno. Essa estratégia visa obter uma maior eficácia de controle, levando em conta tanto resultados econômicos como ecológicos. No entanto, é necessário se

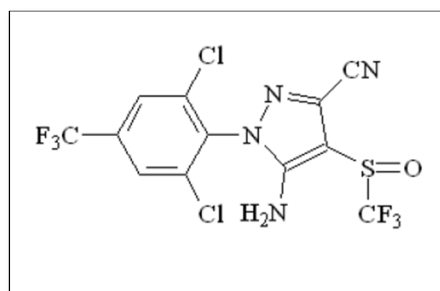
certificar de que existe compatibilidade, haja vista que certos defensivos químicos podem interferir no desempenho do micro-organismo. Em vista disso, devem ser utilizados, para esse tipo de controle, inseticidas sintéticos recomendados por entidades especializadas. Essas recomendações levam em consideração alguns parâmetros, tais como a eficiência e toxicidade dos produtos, além do seu efeito sobre os inimigos naturais das pragas e os riscos de sua aplicação (STERN et al., 1959; HUFFAKER, 1969; HOFFMANN-CAMPO et al., 2000; JÚNIOR et al., 2000; FILHO et al., 2001; DALZOTO; UHRY, 2009; BORGES; NOVA, 2011; FILHO; RODRIGUES, 2015).

## 2.6. Fipronil

O Fipronil e a Sulfluramida são exemplos de inseticidas sintéticos que têm sido empregados no controle de formigas cortadeiras (TORRES et al., 2013).

O Fipronil é um inseticida do grupo químico fenil pirazol (BRITTO et al., 2016) (**Figura 09**). Foi o primeiro inseticida fenil pirazol a ser introduzido no controle de pragas (IKEDA et al., 2004). Foi descoberto em 1987 pela Rhône-Poulenc Agro, sendo apresentado pela primeira vez na Brighton Conference em 1992 (GANT et al., 1998).

**Figura 09.** Estrutura química do Fipronil.



Fonte: OKUMURA (2009).

É considerado extremamente tóxico para os insetos (SIMAS et al., 2001). Atua no sistema nervoso central dos insetos, mais especificamente nos receptores do ácido gama-aminobutírico (GABA) associados a canais de cloreto, bloqueando a passagem de íons cloreto. Eliminando, desse modo, a inibição normal dos impulsos nervosos, provocando um aumento da atividade neural e, por conseguinte, a paralisia e a morte do organismo (IKEDA et al., 2004; LOURENÇO et al., 2012; TOFOLO et al., 2015; CHAGURI, 2016). É conhecido

em mais de 70 países, sendo empregado no controle de pragas em mais de 100 culturas diferentes (OKUMURA, 2009). No Brasil, o início de sua utilização foi registrado no ano 2000 em plantações na região Nordeste e, atualmente, vem sendo utilizado no controle de cupins, besouros, lagartas e broca, em culturas como a do algodão, batata, milho, soja, entre outras. O Fipronil é utilizado, ainda, como antiparasitário em animais domésticos, com o intuito de se controlar pulgas e carrapatos (MASUTTI; MERMUT, 2007 apud MOREIRA et al., 2012; SILVA et al., 2012). Nos Estados Unidos, está registrado para vários usos como o controle de pulgas, carrapatos, cupins, formigas, entre outros (GROSMAN et al., 2002). No entanto, o Fipronil pode causar efeitos tóxicos indesejáveis para espécies não-alvo como peixes e invertebrados aquáticos, assim como para o meio ambiente, podendo contaminar o solo e fontes de água (UDO, 2012; FRATTI; TORRES, 2014).

### 3. OBJETIVOS

**3.1. Objetivo geral:** Avaliar a ação de *Aspergillus* sp., *Beauveria bassiana*, *Beauveria brongniartii*, *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* e *Paecilomyces* sp. sobre formigas cortadeiras e analisar o efeito do inseticida Fipronil sobre o crescimento e conidiogênese desses fungos.

#### 3.2. Objetivos específicos:

- ✓ Avaliar a ação de *Aspergillus* sp., *B. bassiana*, *B. brongniartii*, *M. anisopliae* var. *anisopliae* e *Paecilomyces* sp. sobre formigas cortadeiras, em laboratório, utilizando-se duas concentrações de conídios,  $1,0 \times 10^4$  conídios.mL<sup>-1</sup> e  $1,0 \times 10^8$  conídios.mL<sup>-1</sup>.
- ✓ Determinar a mortalidade média das formigas cortadeiras expostas às diferentes concentrações de conídios dos isolados de fungos entomopatogênicos.
- ✓ Determinar o tempo letal médio (TL<sub>50</sub>) para cada isolado fúngico, em ambas as concentrações de conídios.
- ✓ Avaliar o efeito do inseticida Fipronil sobre o crescimento vegetativo e esporulação (conidiogênese) de *Aspergillus* sp., *B. bassiana*, *B. brongniartii*, *M. anisopliae* var. *anisopliae* e *Paecilomyces* sp. *in vitro*.
- ✓ Classificar o inseticida Fipronil quanto à toxicidade sobre os cinco diferentes isolados de fungos entomopatogênicos *in vitro*.

#### 4. MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Genética Molecular e Biotecnologia Vegetal (LAGEMOL), Centro de Biotecnologia, Universidade Federal da Paraíba (UFPB), *Campus* I, João Pessoa, Paraíba.

**4.1. Origem dos insetos e carrapatos:** os exemplares de formigas cortadeiras (Hymenoptera: Formicidae) foram coletados a partir de formigueiros presentes na reserva de Mata Atlântica situada no *Campus* I da Universidade Federal da Paraíba em João Pessoa, Paraíba, no ano de 2017. Os insetos foram coletados com o auxílio de pinça entomológica e colocados em potes de vidro, sendo levados, posteriormente, ao Laboratório de Genética Molecular e Biotecnologia Vegetal (LAGEMOL/CBIOTEC/UFPB) para a realização do bioensaio. Os carrapatos (fêmeas adultas de *Boophilus microplus*) utilizados no revigoramento dos isolados fúngicos foram coletados no município de Bayeux, Paraíba, no ano de 2017.

**4.2. Origem dos isolados fúngicos:** foram utilizados cinco isolados fúngicos especificados na Tabela 01.

**Tabela 01:** Origem dos cinco isolados fúngicos entomopatogênicos de *Beauveria bassiana*, *Beauveria brongniartii*, *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae*, *Paecilomyces* sp. e *Aspergillus* sp.

Espécie fúngica	Substrato de isolamento/Origem
▪ <i>Beauveria bassiana</i> URM 2915	<i>Nezara viridula</i> / •CENARGEM / PR - 1987
▪ <i>Beauveria brongniartii</i> URM 6504	Solo de sistema agroflorestal / Abreu e Lima / PE - 2011
*▪ <i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i> URM 4920	<i>Mahanarva posticata</i> / Usina Serra Grande / Maceió / AL - 2005
‡ <i>Paecilomyces</i> sp. TP08	Óleo diesel / Posto de gasolina / João Pessoa / PB - 2014
<i>Aspergillus</i> sp.	Formiga cortadeira / Reserva de Mata Atlântica / João Pessoa / PB - 2017

• CENARGEM - Centro Nacional Agropecuário de Recursos Genéticos. \* Linhagem utilizada no controle biológico da cigarrinha da cana-de-açúcar no Norte, Nordeste e Sudeste. ▪ Linhagens cedidas pela Micoteca URM da Universidade Federal de Pernambuco. ‡ Linhagem cedida pelo Laboratório de Microbiologia Ambiental da Universidade Federal da Paraíba (LAMA/CBIOTEC/UFPB). Fonte: Autora (2017).



**4.3. Meio de cultura e manutenção das culturas fúngicas:** Ágar-Sabouraud-Dextrose 2 % (5 g/L de peptona de carne, 20 g/L de glicose, 5 g/L de peptona de caseína e 15 g/L de ágar bacteriológico. pH  $5,6 \pm 0,1$  a  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) (Isofar, Duque de Caxias, RJ, Brasil). Utilizou-se a metodologia descrita por Guimarães (2016), adaptada. As amostras foram repicadas para tubos de ensaio contendo meio Ágar-Sabouraud-Dextrose 2 %, onde as culturas foram mantidas à temperatura ambiente durante 10 a 15 dias e, em seguida, sob refrigeração a  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

**4.4. Exame microscópico dos isolados fúngicos:** utilizou-se a metodologia descrita por Lopes et al. (2008), adaptada. Inóculos das culturas fúngicas foram transferidos para placas de Petri contendo meio Ágar-Sabouraud-Dextrose e cobertos com lamínulas previamente flambadas. As placas foram mantidas à temperatura ambiente e as lamínulas com micélio aderido foram retiradas sucessivamente, nos períodos de 24 – 48 – 96 – 120 horas após o início do experimento, colocadas invertidas sobre uma lâmina estéril, coradas com lactofenol, identificadas e analisadas ao microscópio óptico.

**4.5. Revigoração dos isolados fúngicos:** a metodologia utilizada foi adaptada a partir do trabalho de Ito et al. (2007). Previamente à realização do bioensaio, os isolados foram passados em fêmeas adultas do carrapato *B. microplus*. Para isso, os carrapatos foram tratados com uma solução de hipoclorito de sódio 0,5 % e, em seguida, lavados com água destilada autoclavada. Sendo, então, imersos por alguns segundos em uma suspensão de conídios fúngicos + Tween 80 0,01 %. O controle negativo foi feito utilizando-se apenas água destilada autoclavada e Tween 80 0,01 %. Os carrapatos tratados foram, então, transferidos para placas de Petri contendo papel de filtro umedecido com água destilada autoclavada. As placas foram mantidas à temperatura de  $25 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$  e umidade relativa de  $70 \pm 10\text{ }%$  durante 10 dias e os fungos foram reisolados dos cadáveres dos carrapatos.

**4.6. Preparo das suspensões de conídios:** a metodologia utilizada foi adaptada a partir do trabalho de Guimarães (2016). *Aspergillus* sp., *B. bassiana*, *B. brongniartii*, *M. anisopliae* var. *anisopliae* e *Paecilomyces* sp., foram inoculados em meio de cultura Ágar-Sabouraud-Dextrose 2 %. As placas foram mantidas à temperatura de  $25 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ , por um período de 10 a 15 dias para crescimento e conidiogênese. Após esse período, os conídios foram coletados, raspando-se a superfície da colônia para a realização do bioensaio. Para o preparo das suspensões de conídios, utilizou-se água destilada autoclavada e Tween 80 0,01 %. Em

seguida, foi estimada a concentração de conídios em câmara de Neubauer e as suspensões foram padronizadas em  $1,0 \times 10^4$  conídios.mL<sup>-1</sup> e  $1,0 \times 10^8$  conídios.mL<sup>-1</sup> para cada isolado fúngico.

**4.7. Teste de patogenicidade:** a metodologia utilizada para o teste de patogenicidade foi adaptada a partir do trabalho de Santos et al. (2007b). Para cada espécie de fungo, foi realizado um experimento com 90 exemplares de formigas cortadeiras, correspondendo a três repetições de 10 formigas para cada tratamento (T1<sub>Grupo controle</sub>= água destilada autoclavada + *Tween* 80 0,01 %; T2= suspensão de  $1,0 \times 10^4$  conídios.mL<sup>-1</sup> + *Tween* 80 0,01 %; T3= suspensão de  $1,0 \times 10^8$  conídios.mL<sup>-1</sup> + *Tween* 80 0,01 %). As formigas foram transferidas individualmente para placas de Petri contendo papel de filtro com 1 mL da suspensão de conídios e bolas de algodão umedecidas com uma solução de mel a 10 %. As placas foram mantidas à temperatura de  $25 \pm 2$  °C e umidade relativa de  $70 \pm 10$  %, sendo avaliadas a cada 24 horas durante 10 dias, para observação da extrusão dos fungos e confirmação da morte dos insetos pelos patógenos.

**4.8. Avaliação do efeito do inseticida Fipronil sobre o crescimento vegetativo e esporulação de isolados fúngicos entomopatogênicos:** a metodologia utilizada teve como base o trabalho de Rashid et al. (2012). O meio de cultura Ágar-Sabouraud-Dextrose 2 % foi autoclavado a 121 °C durante 20 minutos, aproximadamente. Após esfriar por alguns minutos em temperatura ambiente, foi adicionado ao meio o antibiótico penicilina, na concentração de 0,3 g/L e 0,8 g/L do inseticida Fipronil. Sendo este último, previamente filtrado utilizando-se filtros de 0,22 µm de diâmetro com o intuito de remover contaminantes. O frasco contendo o meio Ágar-Sabouraud-Dextrose, penicilina e Fipronil foi agitado manualmente durante um minuto para homogeneização desses componentes e, depois, foi vertido em placas de Petri estéreis. Após a solidificação do meio, as placas foram inoculadas com os isolados fúngicos com o auxílio de uma alça de platina (um ponto por placa). Os controles negativos foram feitos cultivando-se os isolados em meio Ágar-Sabouraud-Dextrose contendo apenas penicilina, sem Fipronil. Os experimentos foram realizados em triplicata e as placas foram mantidas à temperatura de  $25 \pm 2$  °C durante 10 dias. Ao final, obteve-se o diâmetro das colônias fúngicas com o auxílio de uma régua milimetrada e foi feita a contagem do número de conídios produzidos por colônia em câmara de Neubauer ao microscópio óptico.

**4.9. Classificação do inseticida Fipronil quanto à toxicidade sobre diferentes isolados de fungos entomopatogênicos:** para a classificação do Fipronil quanto à toxicidade sobre os isolados de *Aspergillus* sp., *B. bassiana*, *B. brongniartii*, *M. anisopliae* var. *anisopliae* e *Paecilomyces* sp. *in vitro*, foi utilizado o modelo proposto por Alves et al. (1998). Através do qual, são calculados os valores percentuais com relação à testemunha (100 %), conforme a **Equação 1**.

$$T = \frac{20(CV) + 80(ESP)}{100}$$

**Equação 1**

Onde:

$T$  = valor corrigido do crescimento vegetativo e esporulação para classificação do produto.

$CV$  = porcentagem de crescimento vegetativo com relação à testemunha.

$ESP$  = porcentagem de esporulação com relação à testemunha.

A partir dos valores de  $T$ , o produto químico foi classificado como  *muito tóxico* (0 a 30), *tóxico* (31 a 45), *moderadamente tóxico* (46 a 60) ou *compatível* (> 60) (ALVES et al., 1998).

#### **4.10. Análise estatística**

##### **4.10.1. Teste de patogenicidade com formigas cortadeiras**

O experimento foi realizado segundo o delineamento experimental inteiramente casualizado, onde os dados foram analisados estatisticamente quanto à variância (teste  $F$ ) e as médias comparadas entre si pelo Teste de Tukey ao nível de 5 % de probabilidade, utilizando-se o programa computacional *Sisvar* (FERREIRA, 2003).

Os dados referentes à mortalidade confirmada foram submetidos à análise de *Probit* para obtenção dos valores de  $TL_{50}$  (em dias) (FINNEY, 1971).

#### **4.10.2. Ensaio com Fipronil**

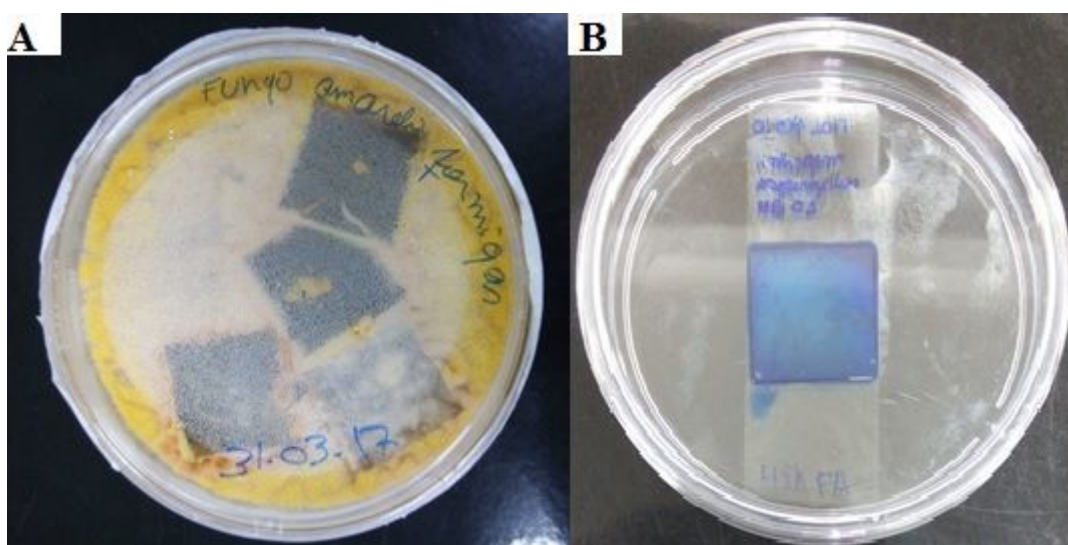
Os dados foram analisados estatisticamente quanto à variância (ANOVA), seguido do teste de variação múltipla de Duncan, onde  $P < 0,05$  (DUNCAN, 1955).

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1. Micrografias dos isolados fúngicos

As estruturas vegetativas e reprodutivas presentes nos diferentes isolados fúngicos foram analisadas pela técnica de cultura em lamínula (**Figura 10**). Para todos os isolados, nas primeiras 24 horas foram evidenciadas a germinação dos conídios e a formação do micélio ramificado hialino. A partir das 48 horas foi constatada a diferenciação micelial onde foram identificadas diferenças morfológicas entre as estruturas vegetativas e reprodutivas dos diferentes isolados.

**Figura 10.** Cultura em lamínula do isolado de *Aspergillus* sp. **(A)** Cultura em lamínula em meio Ágar-Sabouraud-Dextrose. **(B)** Lamínula com micélio aderido corada com lactofenol para visualização das estruturas fúngicas ao microscópio óptico.



Fonte: Autora (2017).

A partir das micrografias de *Aspergillus* sp. (**Figura 11A**), foi possível observar a presença de uma estrutura típica chamada “cabeça aspergilar”, formada pela vesícula, pelas células conidiogênicas e pelos conídios, a qual é sustentada por uma haste que parte de uma célula-pé. Os conídios, por sua vez, se apresentaram dispostos em cadeias (ALVES, 2012; CARVALHO, 2013).

*B. bassiana* revelou hifas septadas, hialinas e a presença de conidióforos formando densos cachos. Os conídios são unicelulares, globosos ou subglobosos e encontram-se

dispostos sobre as hastes das fiálides. Estas, por sua vez, apresentam terminações do tipo zig-zag (SILVA, 2013; RODRIGUES et al., 2016) (**Figura 11B**).

*B. brongniartii* apresentou diferenciação micelial formada por hifas hialinas, lisas, septadas e uninucleadas. Foi constatada a presença de fiálides dispostas sobre a hifa principal, com formato alongado a cilíndrico. Conidióforos escassos, raramente em cachos, onde estavam dispostos conídios uninucleados e elipsóides (ALVES, 1998; SILVA, 2013) (**Figura 11C**).

*M. anisopliae* var. *anisopliae* mostrou um intumescimento na extremidade de uma das hifas chamado de “apressório”, ou seja, uma estrutura especializada que se origina a partir do tubo germinativo ou de uma hifa e que é essencial ao processo de penetração no hospedeiro (**Figura 11D**). Além de hifas hialinas, septadas, anastomoses, conidióforos simples, conídios alongados e uninucleados (BONALDO; PASCHOLATI, 2007).

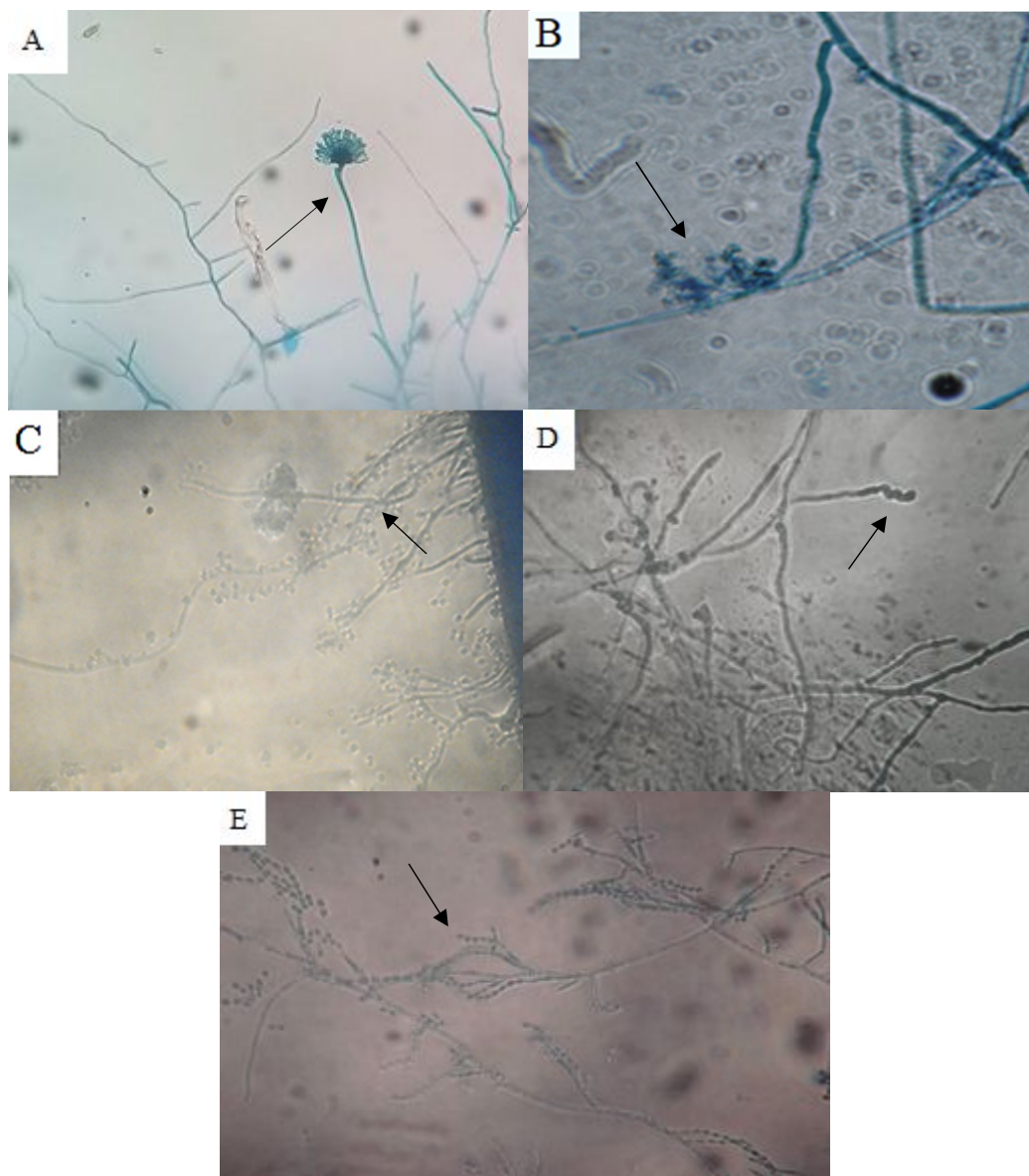
*Paecilomyces* sp. formou conidióforos simples e em ramos verticilados. As fiálides apresentaram uma porção basal intumescida e uma porção alongada, formando um pescoço distintivo, as quais produziram e sustentavam conídios elipsóides, unicelulares e agrupados em cadeias longas (**Figura 11E**) (GÓMEZ et al., 2008; GONZÁLEZ-CASTILLO et al., 2012).

A correta identificação de isolados fúngicos é importante, especialmente em se tratando de fungos entomopatogênicos, uma vez que estes são empregados no controle biológico de insetos-praga na agricultura (LUNA-ALVES LIMA, 1989 apud SILVA, 2013). A identificação de fungos entomopatogênicos é realizada, geralmente, por meio da observação microscópica das estruturas reprodutivas (HUMBER, 2012; LAZO, 2012).

Os gêneros *Metarhizium*, *Beauveria*, *Paecilomyces* e *Aspergillus* pertencem à subdivisão Deuteromycotina, classe Hyphomycetes (TANADA; KAYA, 1993).

Nos fungos filamentosos, o estado assexuado é denominado de “anamorfo” e a reprodução assexuada ocorre por meio da produção de conídios. Os esporos podem formar-se no interior de estruturas unicelulares (endósporos) ou externamente (exósporos) (VERÍSSIMO, 2007; TAVARES, 2012).

**Figura 11.** Micrografias dos isolados de fungos entomopatogênicos. **(A)** Conídios e conidióforo - *Aspergillus* sp. **(B)** Conídios e conidióforo - *Beauveria bassiana*. **(C)** Conídios e conidióforo - *Beauveria brongniartii*. **(D)** Apressório - *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae*. **(E)** Conídios em cadeia - *Paecilomyces* sp.



Fonte: Autora (2017).

Os diferentes tipos morfológicos de conídios encontrados nesses gêneros são classificados como exósporos, pois formam-se nas extremidades dos conidióforos (BERGAMIN FILHO et al., 1995 apud SILVA, 2013). Os conídios são exósporos assexuados que atuam como agentes infectivos e têm como principal função a perpetuação da espécie. Originam-se a partir de células especiais, denominadas “células conidiogênicas”, presentes em estruturas diferenciadas designadas “conidióforos”. São disseminados para locais distantes

por meio da ação dos ventos ou da chuva e germinam em ambiente favorável (GUSMÃO; GRANDI, 1997; JUNIOR et al., 2005; FELIPINI; PIERO, 2009; TAVARES, 2012; SOUZA, 2013; GOMES, 2017).

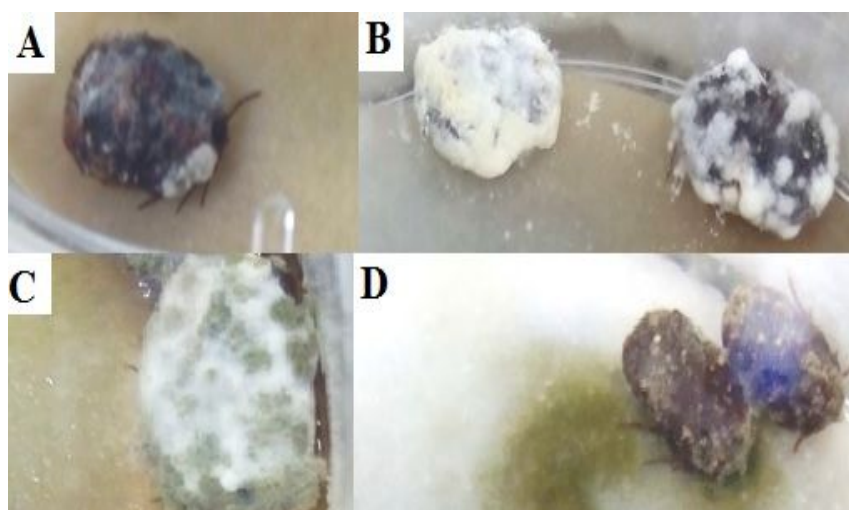
Esses cinco isolados são considerados fungos eucárpicos. Isso significa que as estruturas reprodutivas formam-se apenas em determinadas porções do talo (ALEXOPOULOS; MIMS, 1979 apud JORGE, 1998). A parte restante corresponde à forma vegetativa (GUIMARÃES, 2016). O micélio vegetativo é responsável pela penetração e digestão do substrato, absorção de nutrientes, além de funcionar como um elemento de sustentação (NEDER, 1992; BORGES, 1999). O micélio reprodutivo, por sua vez, é responsável pela produção de esporos, geralmente, estende-se para o ar (NEDER, 1992).

A diferenciação das estruturas somáticas das reprodutivas, disposição dos conidióforos e a forma dos conídios são características importantes para distinguir as espécies dentro dos distintos gêneros (ALVES, 1998; ELENA; PAPAS, 2002).

## 5.2. Revigoramento dos isolados fúngicos

Quatro isolados fúngicos foram passados em adultos do carrapato *B. microplus* para ativar a sua patogenicidade (**Figura 12**).

**Figura 12.** Revigoramento de diferentes isolados fúngicos entomopatogênicos através da passagem em adultos do carrapato *Boophilus microplus*. **(A)** *Beauveria bassiana*. **(B)** *Beauveria brongniartii*. **(C)** *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae*. **(D)** *Paecilomyces* sp. Período de incubação - 10 dias ( $T = 25 \pm 2^\circ\text{C}$ ; umidade relativa  $70 \pm 10\%$ ).



Fonte: Autora (2017).



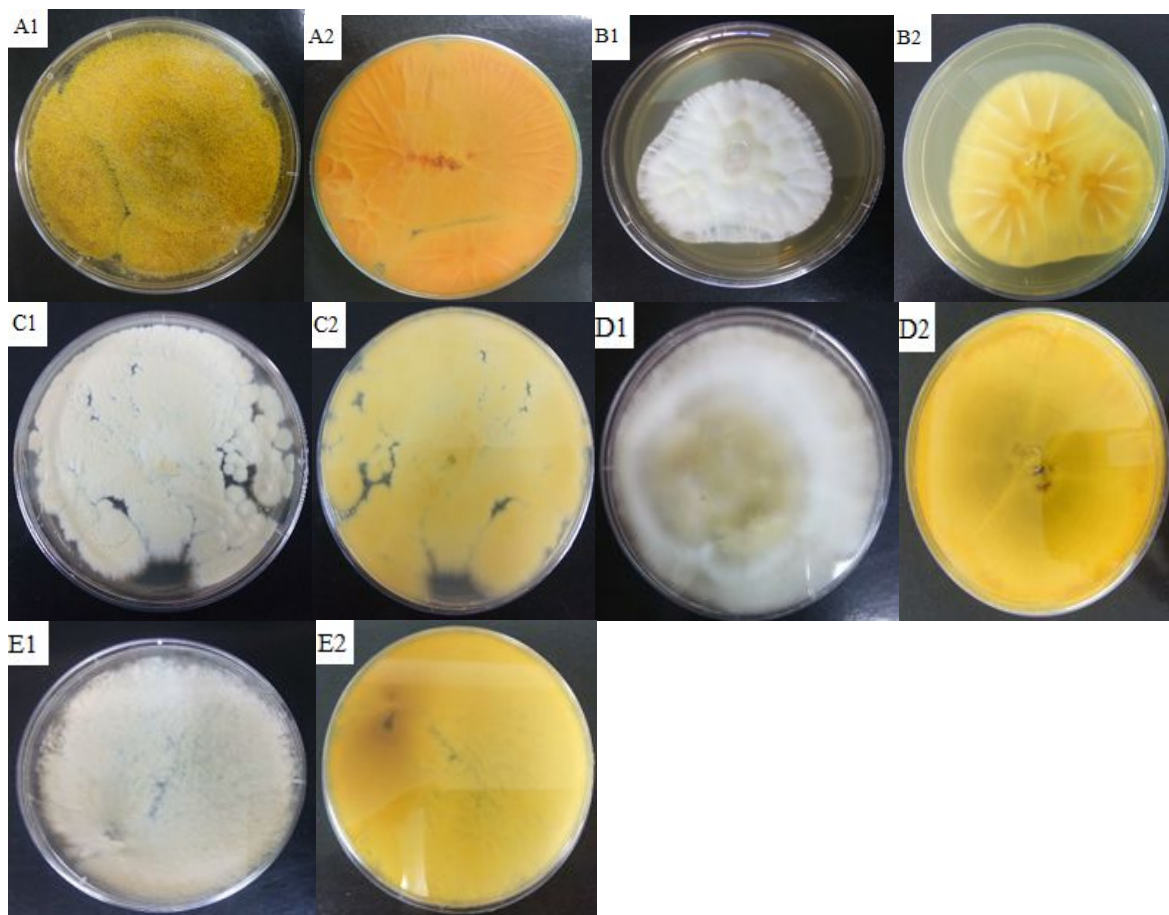
No caso de *B. brongniartii* e *M. anisopliae* var. *anisopliae* foi possível observar a completa mumificação dos carrapatos, ao final dos dez dias de experimento (**Figura 12B** e **Figura 12C**, respectivamente). Já *B. bassiana* e *Paecilomyces* sp., mostraram uma colonização satisfatória com exteriorização das hifas sobre a cutícula do carrapato (**Figura 12A** e **Figura 12D**, respectivamente).

Fungos que são cultivados em laboratório em meios de cultura artificiais podem, ao longo do tempo, reduzir a sua virulência ao serem repicados sucessivas vezes. Em *M. anisopliae*, por exemplo, constatou-se a redução da virulência, assim como alterações na sua morfologia após oito repicagens (ALVES, 1998; ALVES; FARIA, 2010). O tempo de estocagem em Coleções de Culturas em Micotecas e a exposição a altas temperaturas também são fatores que contribuem para reduzir a capacidade de infecção em fungos entomopatogênicos (LOPES et al., 2016). Desse modo, recomenda-se o revigoramento dos isolados mediante a passagem do patógeno sobre um hospedeiro com o intuito de ativar a sua patogenicidade e potencializar a sua ação de controle sobre a praga (LOPES et al., 2008; MARÍN; PARDEY, 2008; SANTOS et al., 2009).

O isolado de *Aspergillus* sp., por sua vez, não passou por esse processo de revigoramento, pois foi isolado diretamente de exemplares de formigas cortadeiras, sendo, após isto, repicado poucas vezes para meios de cultura artificiais em laboratório (**Figura 13A**).

Após o revigoramento, as espécies de fungos foram reisoladas do carrapato e cultivadas em meio Ágar-Sabouraud-Dextrose para a realização do bioensaio (**Figura 13**). Macroscopicamente, as colônias de todos os isolados mostraram características específicas da espécie. *Aspergillus* sp. formou uma colônia arredondada com a parte vegetativa branca e uma massa de conídios de coloração amarelo-esverdeada na frente da colônia e uma pigmentação alaranjada no verso (**Figura 13A**). A colônia de *B. bassiana* apresentou um aspecto aveludado e uma pigmentação esbranquiçada na frente da colônia e creme no verso (**Figura 13B**). *B. brongniartii* evidenciou um aspecto farinoso de coloração creme claro na frente da colônia e uma pigmentação mais escura no verso (**Figura 13C**). *M. anisopliae* var. *anisopliae* mostrou um aspecto algodinoso com conídios de coloração esverdeada na frente da colônia e uma pigmentação amarelada no verso (**Figura 13D**). *Paecilomyces* sp. formou uma colônia de aspecto farinoso de coloração marrom claro na frente da colônia e uma pigmentação amarelada no verso (**Figura 13E**).

**Figura 13.** Aspecto macroscópico das colônias fúngicas. (A) *Aspergillus* sp. (A1) Frente. (A2) Verso. (B) *Beauveria bassiana*. (B1) Frente. (B2) Verso. (C) *Beauveria brongniartii*. (C1) Frente. (C2) Verso. (D) *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae*. (D1) Frente. (D2) Verso. (E) *Paecilomyces* sp. (E1) Frente. (E2) Verso. Período de incubação - 10 a 15 dias (Meio Ágar-Sabouraud-Dextrose; T= 25 ± 2 °C; umidade relativa 70 ± 10 %).

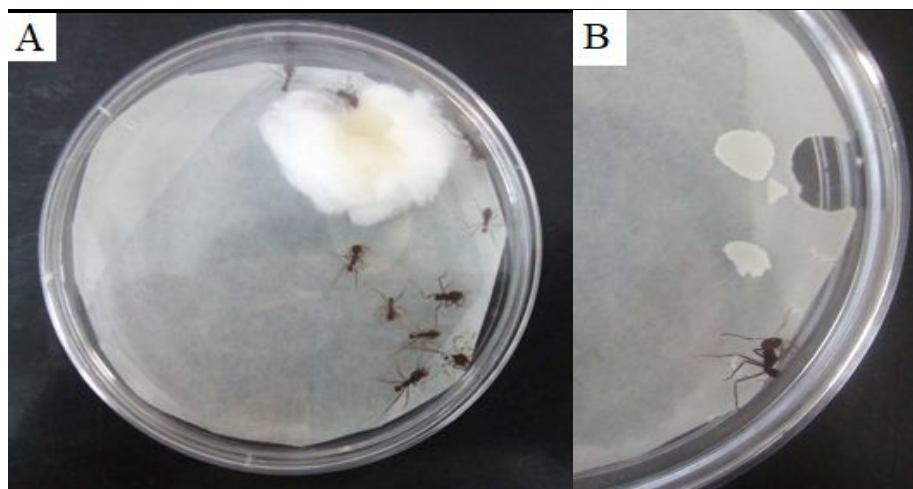


FONTE: Autora (2017).

### 5.3. Teste de patogenicidade com formigas cortadeiras

No início do bioensaio, as formigas mostravam-se agitadas, caminhando rapidamente em várias direções (**Figura 14A**). Ao longo do tempo, passaram a exibir outros tipos de comportamentos como, por exemplo, o ato de cortar os papéis de filtro presentes nas placas (**Figura 14B**). Esse comportamento, em particular, pode estar relacionado à própria biologia das formigas cortadeiras, as quais, quando em seu ambiente natural, apresentam o hábito de cortar folhas para alimentar o fungo que cultivam (HAEDER et al., 2009).

**Figura 14.** Bioensaio com formigas cortadeiras. **(A)** Início do bioensaio com formigas cortadeiras. **(B)** Destaque para o comportamento exibido pelas formigas cortadeiras durante a realização do ensaio em laboratório.



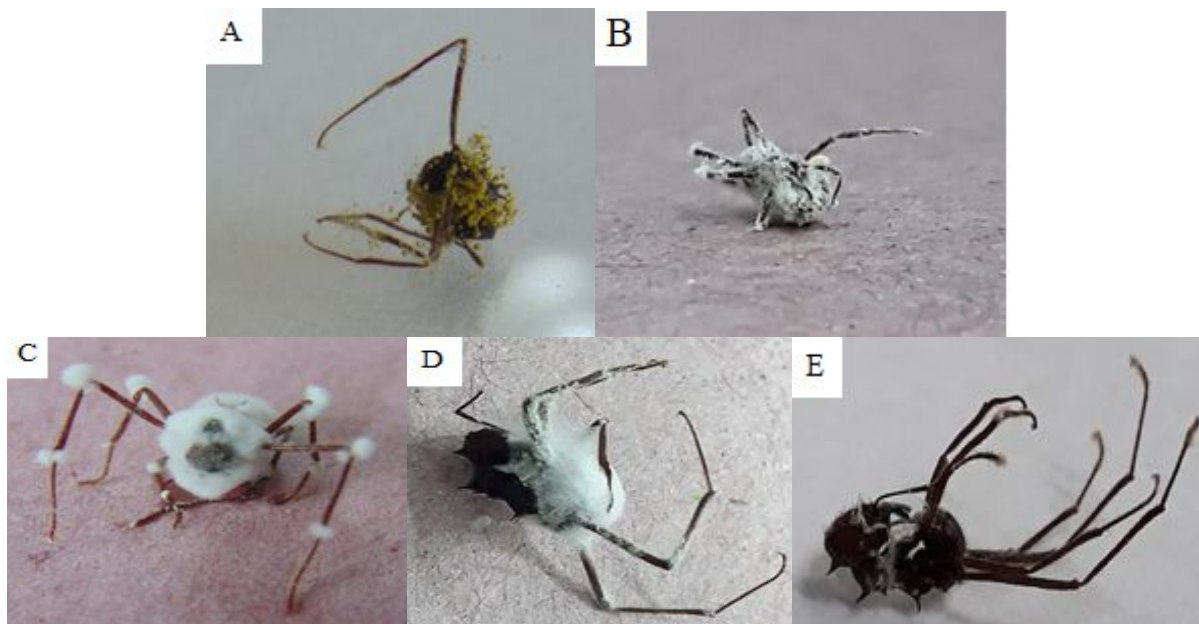
Fonte: Autora (2017).

A partir do bioensaio observou-se que os isolados de *Aspergillus* sp., *B. bassiana*, *B. brongniartii*, *M. anisopliae* var. *anisopliae* e *Paecilomyces* sp. TP08 foram patogênicos às formigas cortadeiras com as duas concentrações de conídios utilizadas ( $1,0 \times 10^4$  conídios.mL<sup>-1</sup> e  $1,0 \times 10^8$  conídios.mL<sup>-1</sup>).

A confirmação da mortalidade das formigas cortadeiras pelos fungos se deu através da verificação da extrusão dos patógenos (LOUREIRO; MONTEIRO, 2005) (**Figura 15**).

Nos controles, não houve crescimento fúngico sobre os cadáveres das formigas cortadeiras, indicando que a mortalidade nesses grupos, não foi resultado da infecção pelos fungos, mas se deu, possivelmente, em decorrência do estresse provocado pelo isolamento social ou, até mesmo, devido à senescência das formigas (RIBEIRO et al., 2012; PALMA, 2016; SILVA, 2017).

**Figura 15.** Extrusão de fungos entomopatogênicos em cadáveres de formigas cortadeiras. (A) *Aspergillus* sp. (B) *Beauveria bassiana*. (C) *Beauveria brongniartii*. (D) *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae*. (E) *Paecilomyces* sp.

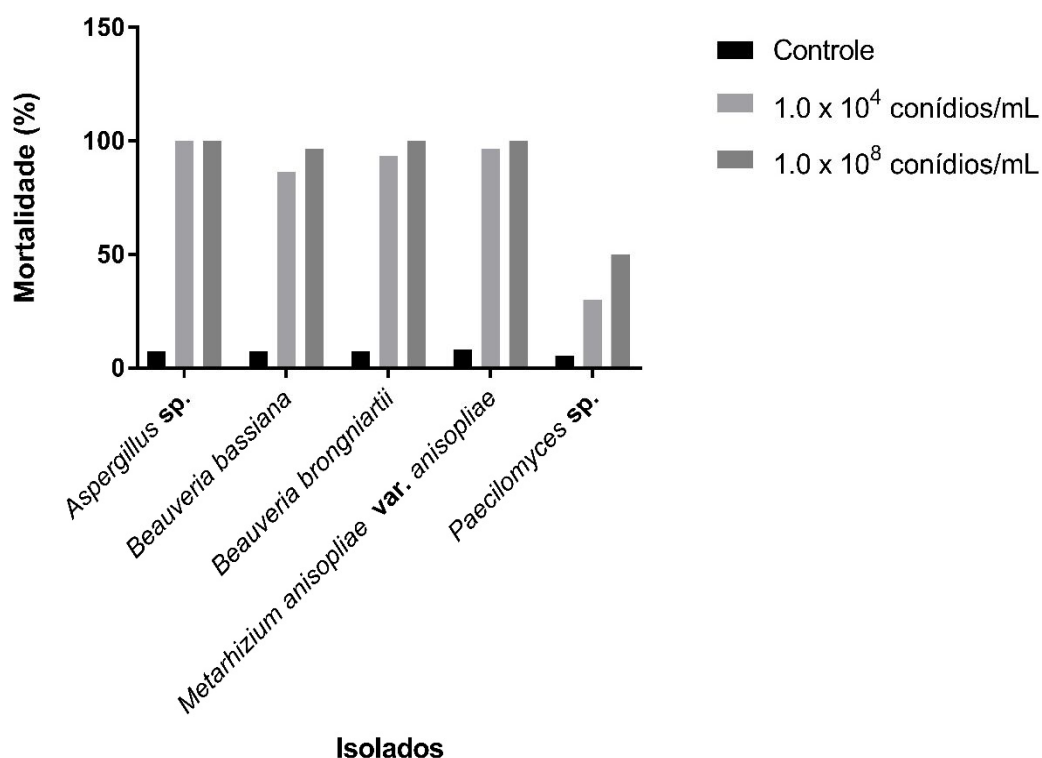


Fonte: Autora (2017).

Na concentração de  $1,0 \times 10^4$  conídios.mL<sup>-1</sup>, todos os isolados, com exceção de *Paecilomyces* sp., apresentaram taxas de mortalidade acima de 86 %. Apenas o isolado de *Aspergillus* sp. apresentou uma taxa de mortalidade igual a 100 % para essa concentração (**Figura 16**).

Na concentração de  $1,0 \times 10^8$  conídios.mL<sup>-1</sup>, todos os isolados, com exceção de *Paecilomyces* sp., apresentaram taxas de mortalidade acima de 96 %. Três isolados (*Aspergillus* sp., *B. brongniartii* e *M. anisopliae* var. *anisopliae*), apresentaram uma taxa de mortalidade igual a 100 % para essa concentração (**Figura 16**).

**Figura 16.** Mortalidade (%) de formigas cortadeiras submetidas ao tratamento controle (água destilada autoclavada + *Tween* 80 0,01 %) e às concentrações de  $1,0 \times 10^4$  conídios.mL<sup>-1</sup> + *Tween* 80 0,01 % e  $1,0 \times 10^8$  conídios.mL<sup>-1</sup> + *Tween* 80 0,01 % de diferentes isolados de fungos entomopatogênicos. Período de incubação - 10 dias, T =  $25 \pm 2$  °C e umidade relativa  $70 \pm 10$  % (n=30).



Fonte: Autora (2017).

Os dados foram analisados estatisticamente e obteve-se a mortalidade média das formigas cortadeiras e o tempo letal  $_{50}$  (TL $_{50}$ ) referente a cada isolado fúngico (**Tabelas 02 e 03**).

Os resultados apresentados na **Tabela 02**, referentes à concentração de  $1,0 \times 10^4$  conídios.mL<sup>-1</sup>, sugerem que houve diferença estatística significativa entre os isolados de *Aspergillus* sp. e *Paecilomyces* sp. TP08. Nessa concentração, o isolado de *Aspergillus* sp., obteve a maior mortalidade média ( $9,99 \pm 0,10$ ) e o menor TL $_{50}$  (6,47 dias). Em contrapartida, o isolado de *Paecilomyces* sp., obteve a menor mortalidade média ( $4,80 \pm 2,10$ ) e o maior TL $_{50}$  (10,01 dias).

**Tabela 02.** Mortalidade média ( $\pm$  EP) e tempo letal médio (TL<sub>50</sub>) referentes ao bioensaio realizado com formigas cortadeiras submetidas à concentração de  $1,0 \times 10^4$  conídios.mL<sup>-1</sup> de cinco isolados de fungos entomopatogênicos. Período de incubação - 10 dias (T =  $25 \pm 2$  °C e umidade relativa  $70 \pm 10$  %) (n=30).

Isolados	Mortalidade média da formiga (n=30) $1,0 \times 10^4$ conídios.mL <sup>-1</sup>	TL <sub>50</sub> (Dias)
<i>Metarhizium anisopliae</i>	$9,02 \pm 0,42$ ab*	7,33
<i>Beauveria bassiana</i>	$8,89 \pm 0,10$ ab	9,01
<i>Beauveria brongniartii</i>	$9,00 \pm 0,32$ ab	8,34
<i>Paecilomyces</i> sp. TP08	$4,80 \pm 2,10$ b	10,01
<i>Aspergillus</i> sp.	$9,99 \pm 0,10$ a	6,47
CV**	17,3	

\*Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade. Dados não transformados. \*\*CV= Coeficiente de variação (%).

Os resultados apresentados na **Tabela 03**, referentes à concentração de  $1,0 \times 10^8$  conídios.mL<sup>-1</sup>, sugerem que houve diferença estatística significativa entre os isolados de *Aspergillus* sp. e *Paecilomyces* sp. TP08. Assim como observado na concentração de  $1,0 \times 10^4$  conídios.mL<sup>-1</sup>, o isolado de *Aspergillus* sp. também obteve a maior mortalidade média ( $9,99 \pm 0,00$ ) e o menor TL<sub>50</sub> (6,01 dias) para essa concentração. Semelhantemente, o isolado de *Paecilomyces* sp., obteve a menor mortalidade média ( $6,20 \pm 1,30$ ) e o maior TL<sub>50</sub> (10,22 dias).

**Tabela 03.** Mortalidade média ( $\pm$  EP) e tempo letal médio (TL<sub>50</sub>) referentes ao bioensaio realizado com formigas cortadeiras submetidas à concentração de  $1,0 \times 10^8$  conídios.mL<sup>-1</sup> de cinco isolados de fungos entomopatogênicos. Período de incubação - 10 dias (T =  $25 \pm 2$  °C e umidade relativa  $70 \pm 10$  %) (n=30).

Isolados	Mortalidade média da formiga (n=30) $1,0 \times 10^8$ conídios.mL <sup>-1</sup>	TL <sub>50</sub> (Dias)
<i>Metarhizium anisopliae</i>	$9,09 \pm 0,20$ ab*	6,93
<i>Beauveria bassiana</i>	$8,99 \pm 0,09$ ab	8,67
<i>Beauveria brongniartii</i>	$9,06 \pm 0,02$ ab	7,89
<i>Paecilomyces</i> sp. TP08	$6,20 \pm 1,30$ b	10,22
<i>Aspergillus</i> sp.	$9,99 \pm 0,00$ a	6,01
CV**	12,4	

\*Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade. Dados não transformados. \*\*CV = Coeficiente de variação (%).

A variação na patogenicidade dos isolados observada no bioensaio com formigas cortadeiras pode ser explicada, principalmente, devido à ocorrência natural de variabilidade genética inter e intraespecífica nos fungos entomopatogênicos (ALVES, 1998; DIEHL-FLEIG et al., 1988 apud LOUREIRO; MONTEIRO, 2005; OLIVEIRA et al., 2004; CONCESCHI, 2017). O que reflete em diferenças na produção de enzimas e toxinas, adesão, velocidade de germinação de conídios, atividade de penetração da cutícula, bem como na capacidade de colonização dos fungos e especificidade (PACOLA-MEIRELLES; AZEVEDO, 1990; KLEESPIES; ZIMMERMANN, 1998 apud LOUREIRO et al., 2005a).

Essas diferenças nas características e adaptações que cada isolado possui reforçam a importância da realização de testes de seleção (GAUGLER et al., 1997 apud ALVES et al., 2009).

Durante a seleção de um isolado são avaliadas várias características do patógeno como, por exemplo, o espectro de hospedeiros, a resistência às condições ambientais adversas, velocidade de germinação, produção de conídios, capacidade de reprodução, crescimento micelial, patogenicidade e virulência. Do ponto de vista comercial, a facilidade de produção e aplicação, especificidade, ausência de toxicidade, entre outras (MOINO JR.;

ALVES, 1997; ALVES, 1998; RAMOS et al., 2004; LOUREIRO et al., 2005b; SANTORO et al., 2007; LA et al., 2013).

Conhecer o  $TL_{50}$  de um isolado é importante. A partir desse dado é possível tirar algumas conclusões a respeito da potência dos patógenos, bem como da susceptibilidade dos insetos à doença e, até mesmo, fazer previsões de controle de pragas (OLIVEIRA, 2013).

Do mesmo modo que Silva (2001), observou-se que os valores referentes à mortalidade e ao  $TL_{50}$ , no presente trabalho, estão correlacionados negativamente, ou seja, à medida que a mortalidade aumenta, o tempo necessário para matar metade da população diminui (**Tabelas 02 e 03**).

Segundo Tamai et al. (2002a), em se tratando do controle de pragas agrícolas, a rapidez com que um patógeno mata o seu hospedeiro é considerada uma característica desejável. Contudo, vale a pena ressaltar que a velocidade de ação do fungo depende de fatores como a dosagem aplicada, da espécie hospedeira envolvida e do estágio de desenvolvimento (XAVIER; ÁVILA, 2005; LOUREIRO et al., 2005a).

A capacidade de proporcionar uma elevada mortalidade final é essencial, uma vez que o objetivo principal é controlar o maior número possível de indivíduos (OLIVEIRA et al., 2002a; TAMAI et al., 2002a).

A determinação das dosagens ou concentrações de um determinado patógeno para o controle de insetos-praga é outro fator importante (MOINO JR.; ALVES, 1997).

Ambas as concentrações de conídios utilizadas no presente trabalho ( $1,0 \times 10^4$  conídios.mL<sup>-1</sup> e  $1,0 \times 10^8$  conídios.mL<sup>-1</sup>), foram capazes de assegurar a infecção e o progresso da doença nas formigas cortadeiras. Além disso, em alguns casos, o aumento da concentração de conídios contribuiu para elevar a mortalidade nos insetos.

*Aspergillus* sp. foi o isolado que apresentou as maiores mortalidades médias e os menores  $TL_{50}$  para ambas as concentrações de conídios testadas no presente trabalho (**Tabelas 02 e 03**). Alguns fungos pertencentes ao gênero *Aspergillus* produzem uma diversidade de compostos que podem ser potentes toxinas contra os insetos, tornando-os potencialmente úteis como micopesticidas (RIBEIRO et al., 2012). Dornelas et al. (2016), em um bioensaio com formigas cortadeiras *Atta sexdens* tratadas com uma concentração de  $1,0 \times 10^7$  conídios.mL<sup>-1</sup> de um isolado de *Aspergillus niger* ( $T = 25 \pm 2$  °C; Umidade relativa  $70 \pm 2,5$  %; 12 horas de fotofase) ( $n = 20$ ), encontraram um  $TL_{50}$  de apenas 4,50 dias, enquanto que no presente trabalho, para um isolado de *Aspergillus* sp., obteve-se valores de  $TL_{50}$  de 6,47 e 6,01 dias para as concentrações de  $1,0 \times 10^4$  conídios.mL<sup>-1</sup> e  $1,0 \times 10^8$  conídios.mL<sup>-1</sup>, respectivamente. Contudo, a mortalidade encontrada pelos autores para as operárias de *A.*



*sexdens* foi de 95 % até o décimo dia de avaliação, enquanto que no presente trabalho, obteve-se 100 % de mortalidade para ambas as concentrações conidiais ao final dos dez dias de avaliação.

Além das qualidades intrínsecas dos patógenos, existem alguns fatores que também devem ser considerados como a susceptibilidade, resistência natural, comportamento, idade e densidade populacional da praga visada (ALVES, 1998; PADULLA; ALVES, 2009; AGOSTINI et al., 2015; JUNIOR, 2017).

Os grupos de insetos diferem na sua susceptibilidade a infecções fúngicas. Essas diferenças podem estar relacionadas a uma diversidade de fatores, incluindo a presença ou ausência de simbioses, melanismo ligado à densidade ou variação genética (DUBOVSKIY et al., 2013).

As formigas cortadeiras do gênero *Atta* constroem ninhos grandes e complexos, capazes de comportar milhões de indivíduos (KLEINEIDAM et al., 2001). Um ninho de *Atta vollenweideri* com cerca de 7,4 anos de idade, por exemplo, pode ter, aproximadamente, 4 milhões de indivíduos (JONKMAN, 1977 apud PIMENTA et al., 2007). A hipótese de Profilaxia Densidade-Dependente relaciona a densidade de indivíduos com o investimento em defesa. Segundo essa hipótese, os organismos que vivem em altas densidades populacionais tendem a investir mais em mecanismos de resistência a doenças comparado àqueles que vivem em baixas densidades populacionais, uma vez que o risco *per capita* de infecção geralmente aumenta com o aumento da população (THOMPSON, et al., 2002; COTTER et al., 2008; WILSON; COTTER, 2008; GUIMARÃES, 2010).

Entre os insetos sociais é comum o comportamento de *grooming*. Considerado um mecanismo de defesa, o *grooming* corresponde ao ato de se limpar com as patas utilizando movimentos de varredura. Essa é uma estratégia bastante útil, que contribui para a eliminação de unidades infectivas dos patógenos e evita a propagação de doenças entre os membros da colônia. Foi relatado que as formigas, assim como os cupins, aumentam o *grooming* quando expostas a conídios fúngicos (MIYASHIRA, 2007; ZARZUELA, 2010; GANDRA, 2014; TRANTER; HUGHES, 2015).

Os fungos, portanto, devem ser capazes de superar ou romper a organização social e as defesas das formigas cortadeiras (MATTOSE, 2012).

Quando um determinado patógeno entra em contato com o inseto, uma das primeiras barreiras encontradas é a cutícula e, caso seja ingerido, a membrana peritrófica. Quando essa primeira linha de defesa é ultrapassada, o patógeno tem que lidar, então, com as defesas humorais e celulares do hospedeiro (DUBOVSKIY et al., 2013; COUCEIRO, 2015).

Apesar da ativação do sistema imune do inseto hospedeiro, evidenciada por meio de processos como melanização, fagocitose, nodulação e encapsulamento, os fungos entomopatogênicos conseguiram desenvolver mecanismos que lhes permitem evitar tais defesas como mudanças na parede celular, produção de substâncias imunomodulatórias ou toxinas (COVA et al., 2009). *M. anisopliae*, por exemplo, libera uma protease capaz de inibir a atividade de adesão e fagocitose dos plasmócitos dos insetos infectados (SILVA, 2002).

Os múltiplos mecanismos de ação conferem aos fungos entomopatogênicos uma alta capacidade para evitar que o hospedeiro desenvolva resistência (DELGADO; MURCIA-ORDOÑEZ, 2011).

Ensaio como os do presente trabalho, são necessários para que se conheça a potencialidade dos diferentes recursos genéticos, contribuindo para a seleção dos isolados mais apropriados, que possuam qualidades satisfatórias e que sejam adequados às condições existentes, viabilizando, desse modo, a sua utilização em programas de controle de pragas (ALVES, 1998; ANDALÓ et al., 2004; PINTO, 2016).

#### **5.4. Avaliação do efeito do inseticida Fipronil sobre o crescimento vegetativo e esporulação (conidiogênese) de diferentes isolados de fungos entomopatogênicos e classificação quanto à toxicidade *in vitro***

A partir do ensaio *in vitro*, observou-se que os isolados de *Aspergillus* sp., *B. bassiana*, *B. brongniartii*, *M. anisopliae* var. *anisopliae* e *Paecilomyces* sp. TP08 tratados com o inseticida Fipronil, na concentração de 0,8 g/L, apresentaram uma redução no crescimento vegetativo em comparação às respectivas testemunhas (**Tabela 04**).

*Aspergillus* sp. e *Paecilomyces* sp., foram os isolados que apresentaram a menor redução do crescimento vegetativo diante da exposição ao inseticida Fipronil,  $21,61 \pm 1,09$  e  $21,42 \pm 2,08$ , respectivamente. Enquanto que o isolado de *B. bassiana*, por sua vez, apresentou a maior redução do crescimento vegetativo entre todos os isolados de fungos entomopatogênicos testados, cerca de  $80,90 \pm 0,98$  (**Tabela 04**).

Esse valor foi superior ao encontrado por Rashid et al. (2012), que para essa mesma concentração de Fipronil (0,8 g/L), obtiveram uma redução do crescimento vegetativo (mm) de apenas  $43,50 \pm 2,60$  % para o fungo *B. bassiana* (T=  $25 \pm 10$  °C; Fotofase 12 horas; Meio Ágar-Sabouraud-Dextrose) (n=9).

**Tabela 04.** Efeito do inseticida Fipronil sobre o crescimento vegetativo (mm) de diferentes isolados de fungos entomopatogênicos. Período de incubação - 10 dias (Meio Ágar-Sabouraud-Dextrose; [Fipronil] = 0,8 g/L; T = 25 ± 2 °C; umidade relativa 70 ± 10 %) (n=3) baseado na porcentagem média ± EP.

Isolados	Crescimento vegetativo (mm) – CONTROLE	Redução do crescimento vegetativo (%) CONTROLE	Crescimento vegetativo (mm) – FIPRONIL	Redução do crescimento vegetativo (%) FIPRONIL
<i>Metarhizium anisopliae</i>	60,31 ± 0,49 bc*	39,69 ± 4,32 ab	32,09 ± 2,91 ab	68,00 ± 4,82 ab
<i>Beauveria bassiana</i>	39,80 ± 5,91 a	60,20 ± 3,70 c	19,10 ± 1,18 a	80,90 ± 0,98 c
<i>Beauveria brongniartii</i>	73,09 ± 1,03 b	26,91 ± 1,98 a	44,48 ± 4,01 b	55,52 ± 0,0 ab
<i>Paecilomyces</i> sp. TP08	79,13 ± 1,55 b	20,87 ± 2,85 a	78,58 ± 3,55 c	21,42 ± 2,08 a
<i>Aspergillus</i> sp.	79,91 ± 5,98 b	20,09 ± 4,31 a	78,39 ± 2,81 c	21,61 ± 1,09 a

\*Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de variação múltipla de Duncan ( $P < 0,05$ ).

Em relação ao segundo parâmetro avaliado, o ensaio *in vitro* revelou que os isolados de *Aspergillus* sp., *M. anisopliae* var. *anisopliae* e *Paecilomyces* sp. TP08 tratados com o inseticida Fipronil, na concentração de 0,8 g/L, não apresentaram uma redução na produção de conídios quando comparados às respectivas testemunhas (**Tabela 05**).

Os isolados de *B. bassiana* e *B. brongniartii* tratados com Fipronil, por outro lado, apresentaram um decréscimo na quantidade de conídios produzidos em comparação aos respectivos controles. Contudo, não houve diferença estatística significativa entre esses tratamentos e suas respectivas testemunhas.

**Tabela 05.** Efeito do inseticida Fipronil sobre a esporulação (conidiogênese) de diferentes isolados de fungos entomopatogênicos. Período de incubação - 10 dias (Meio Ágar-Sabouraud-Dextrose; [Fipronil] = 0,8 g/L; T = 25 ± 2 °C; umidade relativa 70 ± 10 %) (n=3) baseado na porcentagem média ± EP.

Isolados	Esporulação (x10 <sup>7</sup> conídios/mL) –CONTROLE	Esporulação (x 10 <sup>7</sup> conídios/mL) – FIPRONIL
<i>Metarhizium anisopliae</i>	4,50 ± 0,18 a	4,80 ± 1,19 a
<i>Beauveria bassiana</i>	5,10 ± 2,11 a	4,10 ± 1,81 a
<i>Beauveria brongniartii</i>	5,10 ± 1,93 a	4,50 ± 3,02 a
<i>Paecilomyces</i> sp. TP08	9,60 ± 2,05 ab	17,00 ± 1,35 b
<i>Aspergillus</i> sp.	19,00 ± 7,89 c	26,00 ± 3,18 bc

\*Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de variação múltipla de Duncan ( $P < 0,05$ ).

Em face dos resultados obtidos, em relação ao crescimento vegetativo e a conidiogênese, o inseticida Fipronil foi classificado quanto a sua toxicidade *in vitro* sobre cada um dos isolados fúngicos entomopatogênicos (**Tabela 06**).

**Tabela 06.** Valores calculados do índice “T” e classificação do inseticida Fipronil quanto à toxicidade *in vitro* sobre *Aspergillus* sp., *Beauveria bassiana*, *Beauveria brongniartii*, *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* e *Paecilomyces* sp. TP08. Período de incubação - 10 dias (Meio Ágar-Sabouraud-Dextrose; [Fipronil] = 0,8 g/L; T = 25 ± 2 °C; umidade relativa 70 ± 10 %) (n=3).

Isolados	Valores de “T”	Classificação*
<i>Metarhizium anisopliae</i>	95	Compatível
<i>Beauveria bassiana</i>	73	Compatível
<i>Beauveria brongniartii</i>	82	Compatível
<i>Paecilomyces</i> sp. TP08	161	Compatível
<i>Aspergillus</i> sp.	129	Compatível

\*Classificação em conformidade com ALVES et al. (1998).

O controle químico e o controle biológico têm sido utilizados em associação no manejo integrado de pragas (SILVA; NEVES, 2005). Essa estratégia visa aumentar a eficiência e acelerar a mortalidade de insetos, combinando-se fungos entomopatogênicos com doses subletais de inseticidas químicos, podendo ser vantajosa em alguns casos onde a ação isolada do micro-organismo não é totalmente satisfatória (BENZ, 1971 apud WENZEL, 2005; ASI et al., 2010).

A aplicação conjunta de inseticidas e fungos contribui para retardar a expressão de resistência em insetos-praga, levando a uma redução importante no uso de inseticidas e reduzindo a exposição de insetos não-alvo aos mesmos (FARGUES, 1975 apud AMBETHGAR, 2009). Contudo, o emprego de micro-organismos entomopatogênicos e pesticidas, de um modo geral, requer o conhecimento da ação desses produtos sobre os agentes microbianos (BOTELHO; MONTEIRO, 2011).

Alguns inseticidas podem atuar como agentes sinérgicos no desenvolvimento de doenças de insetos causadas por fungos (PAVONE; DORTA, 2010). Outros, no entanto, podem atuar de modo a inibir o crescimento vegetativo, a esporulação e a conidiogênese dos agentes microbianos. Além de causar mutações que podem acarretar na diminuição da virulência dos fungos para uma determinada praga (ALVES, 1998; TANZINI et al., 2002). Faz-se necessário, portanto, a utilização de defensivos químicos compatíveis, para que o MIP não seja comprometido (ALMEIDA et al., 2003).

A toxicidade dos pesticidas sobre entomopatógenos fúngicos varia em virtude da espécie ou da linhagem fúngica, da natureza química do ingrediente ativo, do modo de ação, da formulação do produto, entre outros e diferentes respostas já foram observadas, desde sinérgicas, antagônicas a neutras (ALVES; LECUONA, 1998 apud SILVA et al., 2013b; ASI et al., 2010).

Na metodologia proposta por Alves et al. (1998), os produtos químicos são adicionados em concentrações previamente estabelecidas ao meio de cultura fundido, ou seja, ainda não solidificado e a fórmula para classificação dos mesmos quanto à toxicidade *in vitro* sobre fungos entomopatogênicos, baseia-se no cálculo do fator *T* (OLIVEIRA et al., 2003; SILVA et al., 2005).

No presente trabalho, os cinco isolados fúngicos entomopatogênicos tratados com o inseticida Fipronil, na concentração de 0,8 g/L, apresentaram uma redução do crescimento vegetativo quando comparados às testemunhas. Uma possível explicação para esses resultados foi levantada por Oliveira et al. (2002b). Os autores sugerem que a metabolização do meio

contendo a formulação pelos fungos, pode gerar resíduos tóxicos que, ao se acumularem, podem bloquear vias de compostos importantes para o crescimento fúngico.

Segundo Zimmerman (1975), no entanto, a inibição do crescimento vegetativo de um fungo por parte de um produto químico, não é, necessariamente, um indicativo de redução da sua esporulação ou viabilidade conidial (CAZORLA; MORENO, 2010). Desse modo, se uma colônia fúngica cresce pouco, mas produz muitos conídios, a taxa de disseminação da doença tende a ser maior do que a de uma colônia bem desenvolvida, porém com menor conidiogênese (MOINO JR.; ALVES, 1998).

Como mencionado por Moino Jr. & Alves (1998), a conidiogênese em comparação com o crescimento vegetativo é considerada o parâmetro mais importante, uma vez que os conídios são os propágulos fúngicos que irão atuar no desenvolvimento da doença nas populações de insetos. No presente trabalho, o inseticida Fipronil, na concentração testada (0,8 g/L), não comprometeu a conidiogênese dos isolados de *Aspergillus* sp., *M. anisopliae* var. *anisopliae* e *Paecilomyces* sp. TP08, os quais apresentaram uma quantidade de conídios produzidos superior à dos respectivos controles. E, apesar do decréscimo observado na quantidade de conídios dos isolados de *B. bassiana* e *B. brongniartii* tratados com Fipronil, quando comparados às testemunhas, esses valores não se mostraram estatisticamente significativos (**Tabela 05**). Uma possível explicação para os resultados aparentemente conflitantes obtidos no ensaio *in vitro* com Fipronil para o parâmetro conidiogênese, foi levantada por Moino Jr. & Alves (1998). Uma das hipóteses sugeridas pelos autores é que o fungo, em face a um princípio tóxico que altere o seu ambiente, realiza um elevado esforço reprodutivo, resultando em um aumento na produção de conídios.

Diante dos resultados referentes ao crescimento vegetativo e à conidiogênese dos cinco isolados fúngicos entomopatogênicos e com base na fórmula proposta por Alves et al. (1998), o Fipronil foi classificado como “compatível” no teste de compatibilidade *in vitro*.

Como mencionado por Tamai et al. (2002b), os valores elevados do fator “T” (> 60 = compatível) foram determinados pelo bom desempenho na produção de conídios, considerando-se que a fórmula proposta por Alves et al. (1998), atribui 80 % de participação para esse parâmetro na composição final do valor.

Vários estudos foram realizados com o intuito de se conhecer a ação dos produtos químicos sobre os fungos entomopatógenos (GUARANÁ, 2007). De modo geral, os testes de toxicidade para micro-organismos são conduzidos em laboratório (DEGRANDE et al., 2002 apud JÚNIOR, 2006).

A metodologia proposta por Alves et al. (1998) é uma das mais utilizadas *in vitro*, tendo sido adotada em muitos experimentos, especialmente no Brasil. Os estudos *in vitro* possuem a vantagem de expor ao máximo os agentes microbianos à ação dos produtos químicos (SILVA et al., 2005; KAGIMURA et al., 2011). Alguns autores avaliam somente o crescimento vegetativo e esporulação nos ensaios *in vitro*, enquanto outros discutem e ressaltam a importância de se considerar parâmetros adicionais, como a germinação dos conídios (SILVA et al., 2005). Apesar do crescimento vegetativo e da esporulação serem importantes para a colonização do hospedeiro e transmissão do fungo, segundo certos autores, a germinação deve ser igualmente considerada, pois os fungos entomopatogênicos infectam os insetos através da germinação dos conídios, seja por ingestão ou por contato. Havendo inibição da germinação dos conídios, é possível inferir que o fungo afetado não irá penetrar no hospedeiro e, por conseguinte, não ocorrerá o desenvolvimento da doença (FAION, 2004; MERTZ et al., 2010).

Estudos de compatibilidade entre produtos fitossanitários e fungos entomopatogênicos são indispensáveis para o manejo integrado de pragas. Os achados de tais estudos permitem que os agricultores selecionem compostos apropriados, contribuindo para a preservação dos patógenos e para que efeitos deletérios de químicos incompatíveis possam ser minimizados (SILVA; NEVES, 2005; AMUTHA et al., 2010).

Em uma estratégia de controle associado, deve-se dar prioridade à utilização de produtos menos prejudiciais, portanto, mais seletivos (LOUREIRO et al., 2002). Quando o produto é compatível em condições laboratoriais, existem fortes evidências sobre a sua seletividade em condições de campo. Contudo, ressalta-se a importância da realização de experimentos em condições de semicampo e campo para se avaliar a eficácia dos fungos entomopatogênicos quando associados com inseticidas químicos para o controle de insetos-praga (ALVES, 1998; RASHID et al., 2012).

## 6. CONCLUSÕES

- ✓ Os isolados de *Aspergillus* sp., *B. bassiana*, *B. brongniartii*, *M. anisopliae* var. *anisopliae* e *Paecilomyces* sp. TP08 foram patogênicos às formigas cortadeiras nas concentrações de  $1,0 \times 10^4$  conídios.mL<sup>-1</sup> e  $1,0 \times 10^8$  conídios.mL<sup>-1</sup>.
- ✓ Em alguns casos, o aumento da concentração de conídios fúngicos contribuiu para elevar a mortalidade nos insetos.
- ✓ *Aspergillus* sp. foi o isolado que apresentou as maiores mortalidades médias e os menores TL<sub>50</sub> para ambas as concentrações de conídios testadas.
- ✓ Os cinco isolados fúngicos entomopatogênicos tratados com o inseticida Fipronil, na concentração de 0,8 g/L, apresentaram uma redução do crescimento vegetativo (mm).
- ✓ O inseticida Fipronil, na concentração testada, não comprometeu significativamente a conidiogênese dos cinco isolados fúngicos entomopatogênicos.
- ✓ O inseticida Fipronil foi classificado como “compatível” quanto à toxicidade *in vitro* sobre os cinco isolados fúngicos entomopatogênicos.

Por fim, o bioensaio descrito neste estudo permitiu a descoberta de isolados com grande potencial para serem avaliados em campo objetivando o controle biológico de formigas cortadeiras, respeitando-se, evidentemente, aspectos próprios do ecossistema visado, do isolado fúngico e das formigas cortadeiras.



## 7. REFERÊNCIAS

- ABARCA, M. L. Taxonomía e identificación de especies implicadas en la aspergilosis nosocomial. **Revista Iberoamericana de Micología**, v. 17, p. 79-84, 2000.
- ABREU, J. M. de; DELABIE, J. H. C. Controle das formigas cortadeiras em plantios de cacau. **Revista Theobroma**, v. 16, n. 4, p. 199-211, 1986.
- AGALI, A. E. A. E.; MOHAMMED, E. A. E. R.; HASSAN, A. E. W. Effect of entomopathogenic fungi *Metarhizium anisopliae* var *acridum* and *Beauveria bassiana* on survival of *Anopheles arabiensis* Patton and *Culex quinquefasciatus* Say mosquito larvae. **Sudan Journal of Science**, v. 9, n. 2, p. 26-41, 2017.
- AGOSTINI, T. T.; AGOSTINI, L. T.; DUARTE, R. T.; VOLPE, H. X. L.; SALAS, C.; POLANCZYK, R. A. Eficiência de fungos entomopatogênicos para o controle de *Sitophilus oryzae* L. (Coleoptera: Curculionidae) em condições de laboratório. **Comunicata Scientiae**, v. 6, n. 1, p. 90-96, 2015.
- ALBUQUERQUE, A. C.; PEREIRA, K. C. A.; CUNHA, F. M.; VEIGA, A. F. S. L.; ATHAYDE, A. C. R.; LIMA, E. A. L. A. Patogenicidade de *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* e *Metarhizium anisopliae* var. *acridum* sobre *Nasutitermes coxipoensis* (Holmgren) (Isoptera: Termitidae). **Neotropical Entomology**, v. 34, n. 4, p. 585-591, 2005.
- ALEXOPOULOS, C.J.; MIMS, C.W. **Introductory mycology**. 3 ed. New York: John Wiley & Sons Inc., 1979.
- ALMEIDA, J. E. M.; FILHO, A. B.; LAMAS, C.; LEITE, L. G.; TRAMA, M.; SANO, A. H. Avaliação da compatibilidade de defensivos agrícolas na conservação de microrganismos entomopatogênicos no manejo de pragas do cafeeiro. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 70, n. 1, p.79-84, 2003.
- ALMEIDA, J. T. S.; MEDICI, L. O.; AGUIAR-MENEZES, E. L. Eficiência e princípio de funcionamento de barreira física cônica contra as quenquês. **Floresta**, v. 43, n. 4, p. 633-642, 2013.
- ALMEIDA, R. N. A.; PEÑAFLORES, M. F. G. V.; SIMOTE, S. Y.; BUENO, O. C.; HEBLING, M. J. A.; PAGNOCCA, F. C.; FERNANDES, J. B.; VIEIRA, P. C.; SILVA, M. F. G. F. Toxicity of Substances Isolated from *Helietta puberula* RE Fr. (Rutaceae) to the Leaf-cutting Ant *Atta sexdens* L. (Hymenoptera: Formicidae) and the Symbiotic Fungus *Leucoagaricus gongylophorus* (Singer) Möller. **BioAssay**, v. 2, n. 2, p. 1-8, 2007.
- ALVES-FAVA, J.; NAVAS, C.; RIBEIRO, P. L. Produção e aplicação didática do vídeo “as saúvas: uma sociedade de formigas”. **Revista Cultura e Extensão USP**, v. 5, p. 45-53, 2011.
- ALVES, G. F. **Solubilização do fosfato de rocha por *Aspergillus niger***. 2012. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, Minas Gerais.
- ALVES, R. T.; FARIA, M. **Pequeno Manual sobre fungos entomopatogênicos**. 1. ed. Planaltina, Distrito Federal: Embrapa Cerrados, 2010.

ALVES, S. B. **Controle microbiano de insetos**. 2. ed. Piracicaba: FEALQ, 1998.

ALVES, S.B.; LECUONA, R.E. **Epizootiologia aplicada ao controle microbiano**. In: ALVES, S. B. Controle microbiano de insetos. 2. ed. Piracicaba: FEALQ, 1998, p. 97-157.

ALVES, S. B.; MOINO JR., A.; ALMEIDA, J. E. M. **Produtos fitossanitários e entomopatógenos**. In: ALVES, S. B. Controle microbiano de insetos. 2. ed. Piracicaba: FEALQ, 1998, p. 217-238.

ALVES, V. S.; MOINO JR., A.; SANTA-CECILIA, L. V. C.; ANDALÓ, V.; SOUZA, G. C. Patogenicidade de nematóides entomopatogênicos a cochonilha-da-raiz-do-cafeeiro *Dysmicoccus texensis* (Tinsley) (Hemiptera: Pseudococcidae) em laboratório. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 76, n. 1, p. 67-73, 2009.

ALVIRA, C. O. A. **Dinamica y diversidad de la hormiga cortadora (Genero *Atta*) en diferentes usos del suelo, en la vereda El Cabuyal Del Municipio De la Plata Departamento Del Huila**. 2014. Monografía (Engenharia Florestal) - Universidad Nacional Abierta y a Distancia, Colombia.

ALVIRA, C. O. A.; ACOSTA, D. R. Diversidad de hormigas cortadoras de hojas en tres usos de suelo en la vereda El Cabuyal del Municipio de La Plata, Huila. **Revista Nova**, v. 1, n. 1, p. 38-47, 2015.

AMBETHGAR, V. Potential of entomopathogenic fungi in insecticide resistance management (IRM): A review. **Journal of Biopesticides**, v. 2, n. 2, p. 177-193, 2009.

AMUTHA, M.; BANU, J. G.; SURULIVELU, T.; GOPALAKRISHNAN, N. Effect of commonly used insecticides on the growth of white muscardine fungus, *Beauveria bassiana* under laboratory conditions. **Journal of Biopesticides**, v. 3, n. 1, p. 143 - 146, 2010.

ANDALÓ, V.; MOINO JR., A.; SANTA-CECÍLIA, L. V. C.; SOUZA, G. C. Seleção de isolados de fungos e nematóides entomopatogênicos para a cochonilha-da-raiz-do-cafeeiro *Dysmicoccus texensis* (Tinsley). **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 71, n. 2, p. 181-187, 2004.

ARAGÓN-GARCIA, A.; PÉREZ-TORRES, B. C.; CALDERÓN-GARCÍA, G.; CASTILLO-HERNÁNDEZ, D.; ARAGÓN-SÁNCHEZ, M.; RAMÓN, D. J. Uso del complejo de hongos de la tortilla de maíz (*Zea mays* L.) para el combate de la hormiga arriera *Atta mexicana* (Smith 1858) (Hymenoptera: Formicidae). **Entomología mexicana**, v. 3, p. 153-158, 2016.

ARAÚJO, M. S.; DELLA LUCIA, T. M. C.; RIBEIRO, G. A.; KASUYA, M. C. M. Impacto da Queima Controlada da Cana-de-Açúcar na Nidificação e Estabelecimento de Colônias de *Atta bisphaerica* Forel (Hymenoptera: Formicidae). **Neotropical Entomology**, v. 32, n. 4, p. 685-691, 2003.

ARAÚJO, M. S.; RODRIGUES, C. A.; OLIVEIRA, M. A.; JESUS, F. G. Controle biológico de formigas-cortadeiras: o caso da predação de fêmeas de *Atta* spp. por *Canthon virens*. **Revista de Agricultura Neotropical**, v. 2, n. 3, p. 8-12, 2015.

ARISMENDY, E. L.; PERALTA, S. O. *Metarhizium anisopliae* y *Trichoderma viride* controlan colonias de *Atta cephalotes* en campo mejor que un insecticida químico. **Revista Colombiana de Biotecnología**, v. 4, n. 1, p. 71-78, 2002.

ASI, M. R.; BASHIR, M. H.; AFZAL, M.; ASHFAQ, M.; SAHI, S. T. Compatibility of entomopathogenic fungi, *Metarhizium anisopliae* and *Paecilomyces fumosoroseus* with selective insecticides. **Pakistan Journal of Botany**, v. 42, n. 6, p. 4207-4214, 2010.

AUBAD, P. **Plantas usadas por las comunidades indígenas Ticuna del PNN Amacayacu para el control de la hormiga cortadora: Evaluación biológica de metabolitos secundarios**. 2010. Dissertação (Mestrado) - Universidad Nacional de Colombia.

AYLWARD, F. O.; BURNUM-JOHNSON, K. E.; TRINGE, S. G.; TEILING, C.; TREMMEL, D. M.; MOELLER, J. A.; SCOTT, J. J.; BARRY, K. W.; PIEHOWSKI, P. D.; NICORA, C. D.; MALFATTI, S. A.; MONROE, M. E.; PURVINE, S. O.; GOODWIN, L. A.; SMITH, R. D.; WEINSTOCK, G. M.; GERARDO, N. M.; SUEN, G.; LIPTON, M. S.; CURRIE, C. R. *Leucoagaricus gongylophorus* Produces Diverse Enzymes for the Degradation of Recalcitrant Plant Polymers in Leaf-Cutter Ant Fungus Gardens. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 79, n. 12, p. 3770-3778, 2013.

BADII, M. H.; ABREU, J. L. Control biológico una forma sustentable de control de plagas. **Daena: International Journal of Good Conscience**, v. 1, n. 1, p. 82-89, 2006.

BALE, J. S.; LENTEREN, J. C.; BIGLER, F. Biological control and sustainable food production. **Philosophical Transactions of the Royal Society B**, v. 363, p. 761-776, 2008.

BARBOSA, R. H.; KASSAB, S. O.; PEREIRA, F. F.; ROSSONI, C. Controle químico e biológico de *Mahanarva fimbriolata* Stål, 1854 (Hemiptera: Cercopidae) para regiões produtoras de cana-de-açúcar de Mato Grosso do Sul. **Ambiência**, v. 11, n. 1, p. 247-255, 2015.

BARBOZA, M. R.; SILVA, D. N.; LUSTOSA, S. B. C.; HIROSE, E. Patogenicidade do fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana* sobre o percevejo *Collaria scenica* (Hemiptera: Miridae). **Ambiência**, v. 7, n. 3, p. 473-480, 2011.

BASTOS, C. S.; TORRES, J. B. **Controle Biológico como opção no Manejo de Pragas do Algodoeiro**. 1. ed. Campina Grande, Paraíba: Embrapa, 2003.

BAUTISTA-GÁLVEZ, A.; GONZÁLEZ-CORTES, N. Tres dosis de *Metarhizium anisopliae* sobre la mosca pinta (*Aeneolamia spp.*) en caña de azúcar en la región de los ríos, estado de tabasco. **Universidad y Ciencia**, v. 21, n. 41, p. 37-40, 2005.

BENZ, G. **Synergism of micro-organisms and chemical insecticides**. In: BURGESS, H. D.; HUSSEY, N. W. Microbial control of insects and mites. New York: Academic Press, 1971, p. 327-355.

BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. **Manual de Fitopatologia**. 3. ed. v. 1. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995.

BHAN, S.; SHRANKHLA; MOHAN, L.; SRIVASTAVA, C. N. Larvicidal toxicity of Temephos and entomopathogenic fungus, *Aspergillus flavus* and their synergistic activity against malaria vector, *Anopheles stephensi*. **Journal of Entomology and Zoology Studies**, v. 1, n. 6, p. 55-60, 2013.

BOARETTO, M. A. C.; FORTI, L. C. Perspectivas no controle de formigas cortadeiras. **Série Técnica IPEF**, v. 11, n. 30, p. 31-46, 1997.

BONALDO, S. M.; PASCHOLATI, S. F. Efeito de frações parcialmente purificadas de *Saccharomyces cerevisiae* na germinação de conídios e formação de apressórios por *Colletotrichum sublineolum* e *Colletotrichum lagenarium*. **Summa Phytopathologica**, v. 33, n. 3, p. 233-238, 2007.

BORGES, L. R. **Análise de qualidade microbiológica (Bolores e Leveduras) em erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) e identificação dos fungos potencialmente micotoxigênicos.** 1999. Monografia (Ciências Biológicas) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

BORGES, L. R.; NOVA, M. X. V. Associação de inseticidas químicos e fungos entomopatogênicos no Manejo Integrado de Pragas – uma revisão. **Ambiência**, v. 7, n. 1, p. 179-190, 2011.

BORJA, G. E. M. Erradicação ou manejo integrado das míases neotropicais das Américas? **Pesq. Vet. Bras.**, v. 23, n. 32, p. 131-138, 2003.

BOT, A. N. M.; ORTIUS-LECHNER, D.; FINSTER, K.; MAILE, R.; BOOMSMA, J. J. Variable sensitivity of fungi and bacteria to compounds produced by the metapleural glands of leaf-cutting ants. **Insectes Sociaux**, v. 49, p. 363-370, 2002.

BOTELHO, A. A. A.; MONTEIRO, A. C. Sensibilidade de fungos entomopatogênicos a agroquímicos usados no manejo da cana-de-açúcar. **Bragantia**, v. 70, n. 2, p. 361-369, 2011.

BOTERO, C. E. G.; MARÍN, P. M.; MACHADO, P. B. Claves para el éxito del hongo *Beauveria bassiana* como controlador biológico de la broca del café. **Avances Técnicos Cenicafe**, v. 384, p. 1-8, 2009.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. (2010). Sistema de agrotóxicos fitossanitários. Recuperado de <[http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/principal\\_agrofit\\_cons](http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons)>.

BRECHTEL, A. **El Manejo Ecológico de Plagas y Enfermedades**. 1. ed. Santiago de Chile, Chile: Red de Acción en Plaguicidas y sus Alternativas para América Latina (RAP-AL), 2004.

BRITTO, J. S.; FORTI, L. C.; OLIVEIRA, M. A.; ZANETTI, R.; WILCKEN, C. F.; ZANUNCIO, J. C.; LOECK, A. E.; CALDATO, N.; NAGAMOTO, N. S.; LEMES, P. G.; CAMARGO, R. S. Use of alternatives to PFOS, its salts and PFOSF for the control of leaf-cutting ants *Atta* and *Acromyrmex*. **International Journal of Research in Environmental Studies**, v. 3, p. 11-92, 2016.

BUENO, F. C. **Seleção de ingredientes ativos para o desenvolvimento de iscas tóxicas para o controle de formigas-cortadeiras (Hymenoptera: Formicidae)**. 2013. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) - Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro.

CAÑEDO, V.; AMES, T. **Manual de laboratorio para el manejo de hongos entomopatógenos**. Lima, Perú: Centro Internacional de la Papa (CIP), 2004.

CAFARO, M. J.; POULSEN, M.; LITTLE, A. E. F.; PRICE, S. L.; GERARDO, N. M.; WONG, B.; STUART, A. E.; LARGET, B.; ABBOT, P.; CURRIE, C. R. Specificity in the symbiotic association between fungus-growing ants and protective *Pseudonocardia* bacteria. **Proceedings of the Royal Society B**, v. 278, p. 1814-1822, 2011.

- CAMARGO, R. S.; FONSECA, J. A.; LOPES, J. F. S.; FORTI, L. C. Influência do ambiente no desenvolvimento de colônias iniciais de formigas cortadeiras (*Atta sexdens rubropilosa*). **Ciência Rural**, v. 43, n. 8, p. 1375-1380, 2013.
- CANTARELLI, E. B.; COSTA, E. C.; OLIVEIRA, L. S.; PERRANDO, E. R. Efeito de diferentes doses do formicida “citromax” no controle de *Acromyrmex lundii* (HYMENOPTERA: FORMICIDAE). **Ciência Florestal**, v. 15, n. 3, p. 249-253, 2005.
- CANTARELLI, E. B.; COSTA, E. C.; PEZUTTI, R.; OLIVEIRA, L. S. Quantificação das perdas no desenvolvimento de *Pinus taeda* após o ataque de formigas cortadeiras. **Ciência Florestal**, v. 18, n. 1, p. 39-45, 2008.
- CANTÚ-RUIZ, A. L.; GALVÁN-QUINTERO, A. O.; MAR-SOLIS, L. M. Aplicaciones biotecnológicas en el control biológico. **Artrópodos y Salud**, v. 7, n. 1, p. 54-70, 2017.
- CARRILLO-RAYAS, M. T.; BLANCO-LABRA, A. Potencial y Algunos de los Mecanismos de Acción de los Hongos Entomopatógenos para el Control de Insectos Plaga. **Acta Universitaria**, v. 19, n. 2, p. 40-49, 2009.
- CARVALHO, L. I. C. **Aspergillus e Aspergilose - desafios no combate da doença**. 2013. Dissertação (Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Fernando Pessoa, Porto.
- CARVALHO, N. L.; BARCELLOS, A. L. Adoção do Manejo Integrado de Pragas baseado na percepção e educação ambiental. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, v. 5, n. 5, p. 749-766, 2012.
- CASSIANO, J. A.; DESTÉFANO, R. H. R.; BARACHO, M. S.; NAAS, I. A.; SALGADO, D. D. Análise de adesão do fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae* para o controle de *Alphitobius diaperinus* (cascudinho) em instalações avícolas. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 45, n. 5, p. 348-353, 2008.
- CASTELLANOS-MOGUEL, J.; CRUZ-CAMARILLO, R.; ARANDA, E.; MIER, T.; TORIELLO, C. Relationship between protease and chitinase activity and the virulence of *Paecilomyces fumosoroseus* in *Trialeurodes vaporariorum* (Hemiptera: Aleyrodidae). **Revista Mexicana de Micología**, v. 28, p. 71-80, 2008.
- CASTILHO, A. M. C.; FRAGA, M. E.; AGUIAR-MENEZES, E. L.; ROSA, C. A. R. Seleção de isolados de *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana* patogênicos a soldados de *Atta bisphaerica* e *Atta sexdens rubropilosa* em condições de laboratório. **Ciência Rural**, v. 40, n. 6, p. 1243-1249, 2010.
- CASTILLO, C. E.; CAÑIZALEZ, L. M.; VALERA, R.; GODOY, J. C.; GUEDEZ, C.; OLIVAR, R.; MORILLO, S. Caracterización morfológica de *Beauveria bassiana*, aislada de diferentes insectos en Trujillo – Venezuela. **Revista Academia**, v. 11, n. 23, p. 275-281, 2012.
- CASTILLO, S. Y.; VEGA, J. A. B.; LEZCANO, J.; PIEPENBRING, M.; CÁCERES, O. Hongos entomopatógenos asociados a insectos recolectados en plantaciones de café en el oeste de Panamá. **Tecnociencia**, v. 15, n. 2, p. 29-39, 2013.
- CAZORLA, D.; MORENO, P. M. Compatibilidad de 13 aislamientos de *Beauveria bassiana* patógenos para *Rhodnius prolixus* (Triatominae) con insecticidas químicos. **Boletín**

de **Malariología y Salud Ambiental**, v. 50, n. 2, 2010.

CELIS, S. U. **Fóridos (Díptera: Phoridae) asociados al hábitat de hormigas cortadoras de hojas (*Atta cephalotes* y *Acromyrmex octospinosus*) y sus patrones de localización en un bosque seco tropical Andino**. 2013. Dissertação (Mestrado em Ciência-Entomologia) - Universidad Nacional de Colombia.

CHAGURI, J. L. **Efeitos da exposição ao pesticida fipronil nas alterações pressóricas em ratos acordados**. 2016. Dissertação (Mestrado em Farmacologia e Biotecnologia) - Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu.

CHÁVEZ, B. Y.; ROJAS, J. C.; BARRERA, J. F.; GÓMEZ, J. Evaluación de la patogenicidad de *Beauveria bassiana* sobre *Pachycoris torridus* en Laboratorio. **Southwestern Entomologist**, v. 41, n. 3, p. 783-790, 2016.

CONCESCHI, M. R. **Parâmetros a serem considerados nas pulverizações do fungo *Isaria fumosorosea* para o manejo de *Diaphorina citri***. 2017. Tese (Doutorado em Ciências) - Universidade de São Paulo, Piracicaba.

CORRÊA, M. M.; SILVA, P. S. D. WIRTH, R.; TABARELLI, M.; LEAL, I. R. How leaf-cutting ants impact forests: drastic nest effects on light environment and plant assemblages. **Oecologia**, v. 162, p. 103-115, 2010.

CRAVANZOLA, F.; PIATTI, P.; BRIDGE, P. D.; OZINO, I. O. Detection of genetic polymorphism by RAPD-PCR in strains of the entomopathogenic fungus *Beauveria brongniartii* isolated from the European cockchafer (*Melolontha* spp.). **Letters in Applied Microbiology**, v. 25, p. 289-294, 1997.

COSTA, F. D.; VERZELETTI, F. B.; WAGNER, R. Isolamento e identificação das aflatoxinas B1 e B2 de *Aspergillus parasiticus* em alimentos. **Cadernos da Escola de Saúde**, v. 11, p. 65-78, 2014.

COTTER, S. C.; MYATT, J. P.; BENSKIN, C. M. H.; WILSON, K. Selection for cuticular melanism reveals immune function and life-history trade-offs in *Spodoptera littoralis*. **Journal of Evolutionary Biology**, v. 21, p. 1744-1754, 2008.

COUCEIRO, J. C. **Ação de fungos entomopatogênicos na mortalidade e no sistema imune de formigas-cortadeiras**. 2015. Dissertação (Pós-graduação em Entomologia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais.

COVA, L. J.; SCORZA, J. V.; GARCÍA, D. E.; CAÑIZÁLEZ, L. M.; GUEDEZ, C. C.; MAFFEY, M.; MEDINA, M. G. Patogenicidad *in vitro* de *Beauveria brongniartii* (Sacc.) Petch en *Musca domestica* (L.) como posible estrategia de control biológico en áreas ganaderas. **Zootecnia Tropical**, v. 27, n. 2, p. 113-120, 2009.

CRUZ, I. **Controle biológico de pragas na cultura de milho para produção de conservas (minimilho), por meio de parasitóides e predadores**. 1. ed. Sete Lagoas, Minas Gerais: Embrapa Milho e Sorgo, 2007.

CRUZ, J. C.; MAGALHAES, P. C.; FILHO, I. A. P.; MOREIRA, J. A. A. **Milho: o produtor pergunta, a Embrapa responde**. Brasília, DF: Embrapa, 2011.

CRUZ, J. M.; NOGUEIRA, S. B.; PEREIRA, A. R.; MEWES, B. O. Adaptação de uma motocicleta para termonebulização no controle de formigas saúvas (*Atta* spp.) em áreas reflorestadas de Cerrado. **Revista árvore**, v. 8, n. 2, p. 104-111, 1984.

CURRIE, C. R.; BOT, A. N. M.; BOOMSMA, J. J. Experimental evidence of a tripartite mutualism: bacteria protect ant fungus gardens from specialized parasites. **OIKOS**, v. 101, p. 91-102, 2003.

DALZOTO, P. R.; UHRY, K. F. Controle biológico de pragas no Brasil por meio de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. **Biológico**, v. 71, n. 1, p. 37-41, 2009.

DAMIN, S.; VILANI, A.; FREITAS, D.; KRASBURG, C.; QUEIROZ, J. A.; KAGIMURA, F. Y.; ONOFRE, S. B. Ação de fungicidas sobre o crescimento do fungo entomopatogênico *Metarhizium* sp. **Revista Acadêmica: Ciências Agrárias e Ambientais**, v. 9, n. 1, p. 41-49, 2011.

DÂNGELO, R. A. C. **Actinomicetos e fungos simbiotes: implicações para formigas cortadeiras do gênero *Acromyrmex* Mayr, 1865**. 2011. Dissertação (Pós-Graduação em Entomologia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais.

DANS, D.; ANGLADA, M. M.; MAIDANA, A. caracterización del daño de hormigas cortadoras en el cultivo de sorgo (*Sorghum* spp). **Revista Científica Agropecuária**, v. 13, n. 1, p. 7-15, 2009.

DAUBER, J., WOLTERS, V. Microbial activity and functional diversity in the mounds of three different ant species. **Soil Biol. Biochem.**, v. 32, p. 93-99, 2000.

DEGRANDE, P. E.; REIS, P. R.; CARVALHO, G. A.; BELARMINO, L.C.; **Metodologia para avaliar o impacto de pesticidas sobre inimigos naturais**. In: PARRA, J. R.; BOTELHO, P. S. M.; CÔRREA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. Controle Biológico no Brasil: Parasitóides e predadores. São Paulo: Manole, 2002, p. 71-86.

DELGADO, P. A. M.; MURCIA-ORDOÑEZ, B. Hongos entomopatógenos como alternativa para el control biológico de plagas. **Ambi-Agua**, v. 6, n. 2, p. 77-90, 2011.

DELLA LUCIA, T. M. C. **Hormigas de importancia económica en la región Neotropical**. In: FERNÁNDEZ, F. Introducción a las hormigas de la región Neotropical. Bogotá, Colombia: Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt, 2003.

DELLA LUCIA, T. M. C.; GANDRA, L. C.; GUEDES, R. N. C. Managing leaf-cutting ants: peculiarities, trends and challenges. **Pest Management Science**, v. 70, p. 14-23, 2014.

DELLA LUCIA, T. M. C.; OLIVEIRA, M. A.; ARAÚJO, M. S.; VILELA, E. F. Avaliação da não-preferência da formiga cortadeira *Acromyrmex subterraneus subterraneus* Forel ao corte de *Eucalyptus*. **Revista Árvore**, v. 19, n. 1, p. 92-99, 1995.

DÍAZ, M. P.; MACÍAS, A. F.; NAVARRO, S. R.; TORRE, M. Mecanismo de acción de los hongos entomopatógenos. **Interciencia**, v. 31, n. 12, p. 856-860, 2006.

DIEHL-FLEIG, E.; SILVA, M. E.; PACHECO, M. R. M. Testes de patogenicidade dos fungos entomopatogênicos *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* em *Atta sexdens piriventris* (Santschi, 1919) em diferentes temperaturas. **Ciência e Cultura**, v. 40, n. 11, p. 1103-1105, 1988.

DIEHL, E.; DIEHL-FLEIG, E.; ALBUQUERQUE, E. Z. Occurrence of Attini (Formicidae) in two geomorphological provinces of Rio Grande do Sul, Brazil, **Brazilian Journal of Agriculture**, v. 92, n. 1, p. 66-74, 2017.

DIODATO, M. A. **Ocorrência natural, ensaio de laboratório e de campo de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill, em *Sirex noctilio* F., praga de *Pinus taeda* L.** 1992. Dissertação (Pós-graduação em Engenharia Florestal) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

DOLCI, P.; GUGLIELMO, F.; SECCHI, F.; OZINO, O. I. Persistence and efficacy of *Beauveria brongniartii* strains applied as biocontrol agents against *Melolontha melolontha* in the Valley of Aosta (northwest Italy). **Journal of Applied Microbiology**, v. 100, p. 1063-1072, 2006.

DORNELAS, A. S. P.; SARMENTO, R. A.; SANTOS, G. R.; NASCIMENTO, M. O.; SOUZA, D. J. Fungos Filamentosos Associados às Espécies *Atta sexdens* (Linnaeus) e *Atta laevigata* (F. Smith) (Hymenoptera: Formicidae). **EntomoBrasilis**, v. 9, n. 1, p. 26-30, 2016.

DUARTE, A. P. M.; ATTILI-ANGELIS, D.; BARON, N. C.; FORTI, L. C.; PAGNOCCA, F. C. Leaf-cutting ants: an unexpected microenvironment holding human opportunistic black fungi. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 106, p. 465-473, 2014.

DUBOVSKIY, I. M.; WHITTEN, M. M. A.; YAROSLAVTSEVA, O. N.; GREIG, C.; KRYUKOV, V. Y.; GRIZANOVA, E. V.; MUKHERJEE, K.; VILCINSKAS, A.; GLUPOV, V. V.; BUTT, T. M. Can Insects Develop Resistance to Insect Pathogenic Fungi? **Plos One**, v. 8, n. 4, p. 1-9, 2013.

DUNCAN, D. B. Multiple range and multiple F tests. **Biometrics**, v. 11, p. 1-42, 1955.

ECKARD, S.; BACHER, S.; ENKERLI, J.; GRABENWEGER, G. A simple *in vitro* method to study interactions between soil insects, entomopathogenic fungi, and plant extracts. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 163, p. 315-327, 2017.

EHLER, L. E. Perspectives Integrated pest management (IPM): definition, historical development and implementation, and the other IPM. **Pest Management Science**, 2006.

ELENA, K.; PAPAS, A. C. Pathogenicity and vegetative compatibility of *Fusarium oxysporum* in alfafa. **Journal of Phytopathology**, v. 150, p. 495-499, 2002.

ESTRADA, C.; WCISLO, W. T.; VAN BAEL, S. A. Symbiotic fungi alter plant chemistry that discourages leaf-cutting ants. **New Phytologist**, v. 198, p. 241-251, 2013.

ESTRADA, R. M. H.; SERMEÑO-CHICAS, J. M. Los Zompopos de mayo en El Salvador. **Bioma**, n. 7, p. 13-18, 2013.

EVANS, H. C. Uso actual y potencial de los hongos entomopatógenos para el control biológico de artrópodos plagas. **Revista Palmas**, v. 14, n. 1, p. 37-46, 1993.

FAIA, A. M. **Isolamento e identificação de fungos filamentosos e leveduras em alguns pontos de uma rede de distribuição de água.** 2011. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Biotecnologia) - Universidade de Lisboa, Lisboa, Portugal.



- FAION, M. **Toxicidade de agrotóxicos utilizados no controle de *Bemisia tabaci* biótipo B, sobre fungos entomopatogênicos.** 2004. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Universidade de São Paulo, Piracicaba, São Paulo.
- FAN, J.; XIE, Y.; XUE, J.; LIU, R. The effect of *Beauveria brongniartii* and its secondary metabolites on the detoxification enzymes of the pine caterpillar, *Dendrolimus tabulaeformis*. **Journal of Insect Science**, v. 13, n. 44, p. 1-13, 2013a.
- FAN, J.; XIE, Y.; XUE, J.; ZHANG, Y.; YANG, Q. Cellular Apoptosis of Hemocytes from *Dendrolimus tabulaeformis* Tsai et Liu Larvae Induced with the Secondary Metabolites of *Beauveria brongniartii* (Sacc.) Petch. **PLOS ONE**, v. 8, n. 8, p. 1-10, 2013b.
- FARDER-GOMES, C. F.; OLIVEIRA, M. A.; GONÇALVES, P. L.; GONTIJO, L. M.; ZANUNCIO, J. C.; BRAGANÇA, M. A. L.; PIRES, E. M. Reproductive ecology of phorid parasitoids in relation to the head size of leaf-cutting ants *Atta sexdens* Forel. **Bulletin of Entomological Research**, v. 107, p. 487-492, 2017.
- FARGUES, J. Elude experimentale dans la nature de l'utilisation combinee de *Beauveria bassiana* et d'insecticides a dose reduite contre *Leptinotarsa decemlineata*. **Annales de Zoologie Ecologie Animale**, v. 7, p. 247-264, 1975.
- FARJI-BRENER, A. G.; MEDINA, C. A. The Importance of Where to Dump the Refuse: Seed Banks and Fine Roots in Nests of the Leaf-Cutting Ants *Atta cephalotes* and *A. colombica*. **Biotropica**, v. 32, n. 1, p. 120-126, 2000.
- FATU, A.; DINU, M.; CIORNEI, C. ANDREI, A. Biological control of *Melolontha melolontha* L. larvae with entomopathogenic bioinsecticide based on *Beauveria brongniartii*. **AgroLife Scientific Journal**, v. 4, n. 1, p. 64-69, 2015.
- FELIPINI, R. B.; R. M. D. Redução da severidade da podridão-amarga de maçã em pós-colheita pela imersão de frutos em quitosana. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, n. 12, p. 1591-1597, 2009.
- FERREIRA, D. F. **Sisvar: versão 4.3.** Lavras: DEX/UFLA, 2003.
- FILHO, A. B.; ALMEIDA, J. E. M.; LAMAS, C. Effect of Thiamethoxam on Entomopathogenic Microorganisms. **Neotropical Entomology**, v. 30, n. 3, p. 437-447, 2001.
- FILHO, I. A. P.; RODRIGUES, J. A. S. **Sorgo: o produtor pergunta, a Embrapa responde.** Brasília, DF: Embrapa, 2015.
- FILHO, L. C. P.; CIESLIK, L. F.; TALHEIMER, R.; LUCINI, M.; SILVEIRA, E. R. Mortalidade de formigueiros por diferentes métodos de controle em pastagens. **Synergismus scyentifica UTFPR**, v. 2, 2007.
- FILHO, M. F. S.; COSTA, V. A.; PAZINI, W. C. **Manejo integrado de pragas na cultura da manga**, 2004. Disponível em: <[https://www.researchgate.net/profile/Wilson\\_Pazini/publication/266493214\\_MANEJO\\_INTEGRADO\\_DE\\_PRAGAS\\_NA\\_CULTURA\\_DA\\_MANGA/links/58ac2865aca27206d9bf92e2/MANEJO-INTEGRADO-DE-PRAGAS-NA-CULTURA-DA-MANGA.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Wilson_Pazini/publication/266493214_MANEJO_INTEGRADO_DE_PRAGAS_NA_CULTURA_DA_MANGA/links/58ac2865aca27206d9bf92e2/MANEJO-INTEGRADO-DE-PRAGAS-NA-CULTURA-DA-MANGA.pdf)> Acesso em: 09-04-2018.

FILHO, W. R.; NICKELE, M. A.; STRAPASSON, P. **Combate às formigas cortadeiras**. Curitiba: SENAR-PR., 2011a.

FILHO, W. R.; SANTOS, F.; STRAPASSON, P.; NICKELE, M. A. Danos causados por diferentes níveis de desfolha artificial para simulação do ataque de formigas cortadeiras em *Pinus taeda* e *Eucalyptus grandis*. **Revista Pesquisa Florestal Brasileira**, v. 31, n. 65, p. 37-42, 2011b.

FILHO, W. R.; PORFÍRIO-DA-SILVA, V.; NICKELE, M. A. MARTINS, M. F. O. **Formigas cortadeiras em sistemas de integração lavoura-pecuária-floresta - iLPF: fundamentos para o controle**. 1. ed. Colombo, PR: Embrapa Florestas, 2013.

FILHO, W. R.; OLIVEIRA, E. **Atividade externa, carregamento de isca granulada e controle de *Acromyrmex crassispinus* em floresta de *Pinus taeda***. 1. ed. Colombo, PR: Embrapa Florestas, 2002.

FINNEY, D. J. **Probit analysis**. 3. ed. Cambridge: Cambridge University Press, 1971.

FLORES, M. E. V. **Caracterización de tres cepas de *Beauveria brongniartii* (Saccardo) Petch y su virulencia em *Phthorimaea operculella* (Zeller) y *Symmetrischema tangolias* (Gyen)**. 2003. Tesis - Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú.

FOLGARAIT, P.; GOROSITO, N.; POULSEN, M.; CURRIE, C. R. Preliminary *In Vitro* Insights into the Use of Natural Fungal Pathogens of Leaf-cutting Ants as Biocontrol Agents. **Current Microbiology**, v. 63, p. 250-258, 2011.

FORTI, L. C.; CAMARGO, R. S.; MATOS, C. A. O.; ANDRADE, A. P. P.; LOPES, J. F. Aloetismo em *Acromyrmex subterraneus brunneus* Forel (Hymenoptera, Formicidae), durante o forrageamento, cultivo do jardim de fungo e devolução dos materiais forrageados. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 48, n. 1, p. 59-63, 2004.

FORTI, L. C.; NAGAMOTO, N. S.; RAMOS, V. M.; ANDRADE, A. P. P.; LOPES, J. F. CAMARGO, R. S.; MOREIRA, A. A.; BOARETTO, M. A. C. Eficiencia de sulfluramida, fipronil y clorpirifos como sebos en el control de *Atta capiguara* Gonçalves (Hymenoptera: Formicidae). **Pasturas Tropicales**, v. 25, n. 3, p. 28-35, 2003.

FRANCE, A.; GERDING, M.; GERDING, M.; SANDOVAL, A. Patogenicidad de una colección de cepas nativas de *Metarhizium* spp. y *Beauveria* spp. en *Aegorhinus superciliosus*, *Asynonychus cervinus* y *Otiorhynchus sulcatus*. **Agricultura Técnica**, v. 60, n. 3, 2000.

FRANCO, A. A.; PERES, A. R.; SOUZA, M. F. P.; QUEIROZ, M. S.; ASSIS, J. M. F. Ação de extratos vegetais sobre o desenvolvimento de fungos simbioses das formigas cortadeiras. **Engenharia Ambiental**, v. 10, n. 1, p. 103-113, 2013.

FRATTI, I. G. B.; TORRES, M. A. P. 2014. **Eficiencia en el transporte de cebos tóxicos por hormigas cortadoras del género *Acromyrmex***. Tesis - Facultad de Agronomía, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.

GAJARDO, R.; PAVONE, D.; OSBORN, F.; DORTA, B. **Primer reporte de un hongo entomopatógeno sobre *Hylesia metabus* (Cramer, [1775]) (Lepidoptera: Saturniidae)**. In: HERNANDEZ, J. V.; OSBORN, F.; CONDE, J. E. Estudio multidisciplinario de la palometa peluda *Hylesia metabus*. Venezuela: Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas, 2012, p. 129-137.

GANDRA, L. C. **Mecanismo de supressão de colônias da formiga-cortadeira *Acromyrmex subterraneus subterraneus* por fipronil**. 2014. Dissertação (Pós-Graduação em Entomologia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais.

GANDRA, L. C.; AMARAL, K. D.; COUCEIRO, J. C.; DELLA LUCIA, T. M. C.; GUEDES, R. N. C. Mechanism of leaf-cutting ant colony suppression by fipronil used in attractive toxic baits. **Pest Management Science**, v. 72, p. 1475-1481, 2016.

GANT, D. B.; CHALMERS, A. E.; WOLFF, M. A.; HOFFMAN, H. B.; BUSHEY, D. F. Fipronil: action at the GABA receptor. **Reviews in Toxicology**, v. 2, p. 147-156, 1998.

GARCÍA, M. A. G.; GARCÍA, S. C.; GORDILLO, J. M. L.; MARTÍNEZ, R. F. M. Hongos entomopatogênicos como uma alternativa en el Control Biológico. **Kuxulkab'**, v. 15, n. 27, p. 25-28, 2008.

GASSEN, D. N.; TAMBASCO, F. J. Controle Biológico dos pulgões do trigo no Brasil. **Inf. Agropec.**, v. 9, n. 104, p. 49-51, 1983.

GAUGLER, R.; LEWIS, E.; STUART, R.J. Ecology in the service of biological control: the case of entomopathogenic nematodes. **Oecologia**, v. 109, p. 483-489, 1997.

GHIKAS, D. V.; KOUVELIS, V. N.; TYPAS, M. A. Phylogenetic and biogeographic implications inferred by mitochondrial intergenic region analyses and ITS1-5.8S-ITS2 of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *B. brongniartii*. **BMC Microbiology**, v. 10, 2010.

GHINI, R.; BETTIOL, W. Proteção de plantas na agricultura sustentável. **Cadernos de Ciência & Tecnologia**, v. 17, n. 1, p. 61-70, 2000.

GIMENES, D. C.; ALEXANDRINO, T. D.; MACHADO, A. C.; VARÉA, G. S. Induction of Proteases from *Beauveria bassiana* by *Aedes aegypti* larvae and cuticle cicadas. **Biochemistry and Biotechnology Reports**, v. 3, n. 1, p. 41-47, 2014.

GONZAGA, A. D.; SOUSA, S. G. A.; SILVA, N. M.; PEREIRA, J. O. Toxicidade de Urina de Vaca e da Manipueira de Mandioca Sobre Pragas Chaves do Abacaxi, **Rev. Bras. De Agroecologia**, v. 4, n. 2, 2009.

GOMES, M. D. F. **Atividade inseticida de fungos entomopatogênicos e do alcaloide matrine em larvas de *Musca domestica* Linnaeus, 1758 (Diptera: Muscidae)**. 2017. Dissertação (Pós-Graduação em Medicina Tropical) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia.

GOMEZ, M. R.; CESAR, E. S.; RIVERA, J. S. M.; FLORES, J. L. R.; SALGADO, J. R. H.; MENDEZ, J. G. P. Evaluacion de insecticidas alternativos para el control de paratrioza (*Bactericera cockerelli* B.y L.) (Homoptera: Triozidae) en el cultivo de chile jalapeño (*Capsicum annum* L.). **Revista Chapingo Serie Zonas Aridas**, v. 76, p. 47-56, 2008.

GÓMEZ, N. A. M. Hormigas cortadoras de hojas en el departamento del Vaupés, Colombia: Una propuesta de manejo integrado. **Revista Vaupés Innova**, p. 18-41, 2017.

GONZALES, G. E. B. **Determinación, ciclo biológico, parámetros biológicos y comportamiento de *Telenomus* sp. (Hymenoptera: Scelionidae) parasitoide de huevos de**

***Liorhyssus hyalinus*. F (Hemiptera: Rhopalidae) “chinche de la quinua” en condiciones de laboratorio, 2015-2016.** 2017. Tesis - Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa, Arequipa, Perú.

GONZÁLEZ-CASTILLO, M.; AGUILAR, C. N.; RODRÍGUEZ-HERRERA, R. Control de insectos-plaga en la agricultura utilizando hongos entomopatógenos: retos y perspectivas. **Revista Científica de la Universidad Autónoma de Coahuila**, v. 4, n. 8, p. 42-55, 2012.

GROSMAN, D. M.; UPTON, W. W.; MCCOOK, F. A.; BILLINGS, R. F. Attractiveness and efficacy of fipronil and sulfluramid baits for control of the Texas leafcutting ant. **Southwestern Entomologist**, v. 27, n. 3/4, 2002.

GRUBER, A. K.; VALDIX, J. K. Control de *Atta* spp. con prácticas agrícolas e insecticidas botánicos. **Manejo Integrado de Plagas y Agroecología**, n. 67, p. 87- 90, 2003.

GUARANÁ, C. F. R. **Ação patogênica de linhagens de *Metarhizium anisopliae* sobre *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae), e compatibilidade química a inseticidas.** 2007. Tese (Pós-Graduação em Ciências Biológicas) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco.

GUÉDEZ, C.; CASTILLO, C.; CAÑIZALES, L.; OLIVAR, R. Control biológico: una herramienta para el desarrollo sustentable y sostenible. **ACADEMIA**, v. 7, n. 13, p. 50-74, 2008.

GUERRA, P. T.; WONG, L. J. G.; ROLDÁN, H. M.; GUTIÉRREZ, C. G.; PADILLA, C. R.; FLORES, R. A. G.; GUERRA, R. S. T. Bioinsecticidas: su empleo, producción y comercialización en México. **Ciencia UANL**, v. 4, n. 2, p. 143-152, 2001.

GUERREIRO, J. C. A importância das joaninhas no controle biológico de pragas no Brasil e no mundo. **Revista Científica Eletrônica de Agronomia**, n. 5, 2004.

GUIMARÃES, M. R. F. **Polietismo e expectativa de vida em operárias de *Atta laevigata*.** 2010. Dissertação (Pós-Graduação em Entomologia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais.

GUERRERO, J.; MERA, M.; SALVO, H.; CARRILLO, R. Discriminación de cepas nativas chilenas del hongo entomopatógeno *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* con marcadores moleculares RAPD. **Agro sur**, v. 28, n. 1, p. 81-91, 2000.

GUERRERO, J. R. **Potencial del botón de oro (*Tithonia diversifolia*) como controlador biológico de hormiga arriera, *Atta cephalotes* (Hymenoptera: Myrmicinae).** 2013. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Universidad Del Valle.

GUSMÃO, L. F. P.; GRANDI, R. A. P. Hyphomycetes com conidioma dos tipos esporodóquio e sinema associados a folhas de *Cedrela fissilis* (Meliaceae), em Maringá, PR, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 11, n. 2, p. 123-134, 1997.

GUTIÉRREZ, A. I.; SALDARRIAGA, Y. Observación de la patogenicidad de *Metarhizium anisopliae* em soldados *Nasutitermes* sp. (Isoptera: Termitidae). **Revista Colombiana de Entomología**, v. 30, n. 2, p. 151-156, 2004.

GUTIÉRREZ, M. E. M.; CÁRDENAS, Y. G.; LEQUERQUE, A. El género *Metarhizium* Sorokin y su aplicación en el control de insectos plagas. **Revista Cubana de Ciencias Biológicas**, v. 5, n. 2, p. 1-13, 2016-2017.

HAEDER, S.; WIRTH, R.; HERZ, H.; SPITELLER, D. Candidicin-producing *Streptomyces* support leaf-cutting ants to protect their fungus garden against the pathogenic fungus *Escovopsis*. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 106, n. 12, p. 4742-4746, 2009.

HAINES, B. L. Element and energy flows through colonies of the leaf cutting ant *Atta colombica*, in Panama. **Biotropica**, v. 10, n. 4, p. 270-277, 1978.

HANSON, P.; HILJE, L. **Control Biológico de Insectos**. Turrialba: Centro Agronomico Tropical de Investigacion y Enseñanza, 1993.

HIDALGO, E. **Control de plagas agrícolas y florestales con agentes microbiológicos**. Turrialba, Costa Rica: CATIE, 1999.

HOFFMANN-CAMPO, C. B.; MOSCARDI, F.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; OLIVEIRA, L. J.; SOSA-GÓMEZ, D. R.; PANIZZI, A. R.; CORSO, I. C.; GAZZONI, D. L.; OLIVEIRA, E. B. **Pragas da soja no Brasil e seu manejo integrado**. Londrina: Embrapa Soja, 2000.

HÖLLDOBLER, B.; WILSON, E. O. **The Ants**. Cambridge: Harvard University Press, 1990.

HUANES-CARRANZA, J.; WILSON-KRUGG, J.; Efecto de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* sobre adultos y ninfas de *Oligonychus* sp. en condiciones de laboratorio. **REBIOL**, v. 36, n. 1, p. 51-58, 2016.

HUFFAKER, C. B. **Biological control**. Boston, 1969.

HUMBER, R. A. **Identification of entomopathogenic fungi**. In: LACEY, L. A. Manual of techniques in invertebrate pathology. 2. ed. Academic Press / Elsevier, 2012, p. 151-187.

IKEDA, T.; NAGATA, K.; KONO, Y.; YEH, J. Z.; NARAHASHI, T. Fipronil modulation of GABAA receptor single-channel currents. **Pest Management Science**, v. 60, p. 487-492, 2004.

ITO, E. T.; VARÊA-PEREIRA, G.; MIYAGUI, D. T.; PINOTTI, M. H. P.; NEVES, P. M. O. J. Production of Extracellular Protease by a Brazilian Strain of *Beauveria bassiana* Reactivated on Coffee Berry Borer, *Hypothenemus hampei*. **Brazilian archives of Biology and Technology**, v. 50, n. 2, p. 217-223, 2007.

JACKSON, M. A.; PAYNE, A. R.; ODELSON, D. A. Liquid-culture production of blastospores of the bioinsecticidal fungus *Paecilomyces fumosoroseus* using portable fermentation equipment. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 31, p. 149-154, 2004.

JONKMAN, J. C. M. **Biology and ecology of the leaf-cutting ant *Atta vollenweideri* Forel, 1898 (Hymenoptera: Formicidae) and its impact in paraguayan pastures**. Lien, 1977.

JORGE, M. L. A. **Caracterização de isolamentos portugueses de *Albugo candida* (Pers.) Kuntze**. 1998. Dissertação (Mestrado em Horticultura, Fruticultura, Olericultura e Plantas ornamentais) - Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, Portugal.

JUNIOR, A. G.; BIZI, R. M.; AUER, C. G. ***Oidium* sp. em Mudas de Eucalipto**. 1. ed. Colombo, PR: Embrapa Florestas, 2005.

JÚNIOR, A. G.; SANTOS, A. F.; AUER, C. G. Perspectivas do uso do controle biológico contra doenças florestais. **Floresta**, v. 30, n. 1/2, p. 155-165, 2000.

JÚNIOR, A. L. M.; DELLA LUCIA, T. M. C.; BARBOSA, L. C. A.; MAFFIA, L. A.; MORANDI, M. A. B. Efeito de Secreções da Glândula Mandibular de *Atta sexdens rubropilosa* Forel (Hymenoptera: Formicidae) Sobre a Germinação de Conídios de *Botrytis cinerea* Pers. Fr. **Neotropical Entomology**, v. 30, n. 3, p. 403-406, 2001.

JÚNIOR, G. M. C. **Análise integrada das variáveis virulência e produção de conídios na seleção de fungos entomopatogênicos para o desenvolvimento de biopesticidas**. 2017. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Universidade de São Paulo, Piracicaba.

JÚNIOR, F. B. P. **Ação patogênica de linhagens de *Beauveria bassiana* sobre *Callosobruchus maculatus* (COLEOPTERA: BRUCHIDAE), análise genética (PCR) e compatibilidade com inseticidas químicos**. 2006. Tese (Pós-Graduação em Biologia de Fungos) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco.

KAGIMURA, F. Y.; KASBURG, C. R.; FREITAS, D.; VILANI, A.; QUEIRÓZ, J. A.; DAMIN, S.; ONOFRE, S. B. Ação de fungicidas sobre o crescimento do fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. **Revista em Agronegócios e Meio Ambiente**, v. 4, n. 2, p. 277-290, 2011.

KESSLER, P.; ENKERLI, J.; SCHWEIZER, C.; KELLER, S. Survival of *Beauveria brongniartii* in the soil after application as a biocontrol agent against the European cockchafer *Melolontha melolontha*. **Biocontrol**, v. 49, p. 563-581, 2004.

KLEESPIES, R. G.; ZIMMERMANN, G. Effect of additives on the production, viability and virulence of blastospores of *Metarhizium anisopliae*. **Bioc. Sci. Tech.**, v. 8, p. 207-214, 1998.

KLEINEIDAM, C.; ERNST, R.; ROCES, F. Wind-induced ventilation of the giant nests of the leaf-cutting ant *Atta vollenweideri*. **Naturwissenschaften**, v. 88, p. 301-305, 2001.

KLICH, M. A.; SAMSON, R. A. ***Aspergillus* reference cultures**. International Union of Microbiological Societies, 1996.

KOST, C.; LAKATOS, T.; BOTTCHE, I.; ARENDHOLZ, W.; REDENBACH, M.; WIRTH, R. Non-specific association between filamentous bacteria and fungus-growing ants. **Naturwissenschaften**, v. 94, p. 821-828, 2007.

LA, M. T. D.; CORTEZ, H.; ORTIZ, C. F.; CAPPELLO, S.; CRUZ, A. D. L. Caracterización de aislamientos nativos de *Metarhizium anisopliae* y su patogenicidad hacia *Aeneolamia postica*, en Tabasco, México. **Revista Colombiana de Entomología**, v. 39, n. 1, p. 40-46, 2013.

LAURENTIS, V. L. ***Helicoverpa armigera* (HÜBNER) (Lepidoptera: Noctuidae): táticas para o manejo integrado**. 2017. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

LAZO, M. L. S. R. **Caracterização e patogenicidade de fungos entomopatogênicos isolados do percevejo-bronzeado do eucalipto, *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera:**

**Thaumastocoridae**). 2012. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, São Paulo.

LEAL, I. R.; WIRTH, R.; TABARELLI, M. The Multiple Impacts of Leaf-Cutting Ants and Their Novel Ecological Role in Human-Modified Neotropical Forests. **Biotropica**, v. 46, n. 5, p. 516-528, 2014.

LECUONA, R. E.; RODRIGUEZ, J.; ROSSA, F. R. L. Effect of Constant and Cyclical Temperatures on the Mortality of *Triatoma infestans* (Klug) (Hemiptera: Reduviidae) Treated with *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. (Hyphomycetes). **Neotropical Entomology**, v. 34, n. 4, p. 675-679, 2005.

LEITE, L. G.; BATISTA FILHO, A.; ALMEIDA, J. E. M.; ALVES, S. B. **Produção de fungos entomopatogênicos**. Ribeirão Preto: Livroceres, 2003.

LEITE, M. S. P.; IEDE, E. T.; PENTEADO, S. R. C.; ZALESKI, S. R. M.; CAMARGO, J. M. M.; RIBEIRO, R. D. Seleção de isolados de fungos entomopatogênicos para o controle de *Hedypathes betulinus* e avaliação da persistência. **Floresta**, v. 41, n. 3, p. 619-628, 2011.

LEMUS, Y. A.; RODRÍGUEZ, G. M.; CUERVO, R. A.; VANEGAS, J. A. D.; ZULUAGA, C. L.; RODRÍGUEZ, G. Determinación de la factibilidad del hongo *Metarhizium anisopliae* para ser usado como control biológico de la hormiga arriera (*Atta cephalotes*). **Revista Científica Guillermo de Ockham**, v. 6, n. 1, p. 91-98, 2008.

LENTEREN, J. C.; WOETS, J. Biological and integrated pest control in greenhouses. **Annual Review of Entomology**, v. 33, p. 239-269, 1988.

LEÓN, G. A. La diversidad de insectos en cítricos y su importancia en los programas de manejo integrado de plagas. **Manejo Integrado de Plagas y Agroecología**, n. 74, p. 85-93, 2005.

LERMA, J. M.; ULLOA, P. C.; MANZANO, M. R. Caracterización de nidos de la hormiga arriera *Atta cephalotes* (Hymenoptera: Myrmicinae) en Cali (Colombia). **Revista Colombiana de Entomología**, v. 32, n. 2, p. 151-158, 2006.

LIMA, D. B. C.; SILVA, A. G.; PROCÓPIO, S. O.; BARROSO, A. L. L.; DAN, H. A. Controle químico de plantas voluntárias de soja Roundup Ready® em diferentes estádios de desenvolvimento. **Revista Caatinga**, v. 24, n. 3, p. 64-70, 2011.

LINK, H. M.; LINK, F. M.; LINK, D. Controle da formiga-preta-pastadeira, *Acromyrmex crassispinus*, com formicidas em pó. **Ciência Floretal**, v. 10, n. 1, p. 45-56, 2000.

LIRA, D. D. **Caracterização de *Aspergillus* sp. quanto a capacidade de degradação de óleo diesel**. 2014. Dissertação (Pós-graduação em Biologia de Fungos) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco.

LOECK, A. E.; GRUTZMACHER, D. D.; COIMBRA, S. M. Ocorrência de formigas cortadeiras do gênero *Acromyrmex* nas principais regiões agropecuárias do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 9, n. 2, p. 129-133, 2003.

LOECK, A. E.; GRUTZMACHER, D. D.; STORCH, G. Distribuição geográfica de *Atta sexdens piriventris* Santschi, 1919, nas principais regiões agropecuárias do estado do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 7 n. 1, p. 54-57, 2001.

LOPES, A. J.; JANSEN, U.; CAPONE, D.; JANSEN, J. M. Aspergiloses pulmonares. **Pulmão**, v. 13, n. 1, p. 34-44, 2004.

LOPES, R. S.; PORTELA, A. P. A. S.; SVEDESE, V. M.; ALBUQUERQUE, A. C.; LIMA, E. A. L. A. Aspectos morfológicos de *Paecilomyces farinosus* (HOLM EX S. F. GRAY) BROWN & SMITH sobre infecção em *Coptotermes gestroi* (WASMANN) (ISOPTERA: RHINOTERMITIDAE). **Biológico**, v. 70, n. 1, p. 29-33, 2008.

LOPES, R. S. **Patogenicidade de *Paecilomyces farinosus* sobre *Coptotermes gestroi* e parâmetros biológicos**. 2007. Dissertação (Pós-graduação em Biologia de fungos) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco.

LOPES, R. S.; LIMA, G.; OLIVEIRA, L. G.; COSTA, A. F.; CORREIA, M. T. S.; LIMA, E. A. L. A.; LIMA, V. L. M. Aspectos biológicos de espécies de *Isaria* (Persoon) após infecção sobre *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae). **Pesq. agropec.**, v. 21, n. 1, p. 32-38, 2016.

LOUREIRO, E. S.; FILHO, A. B.; ALMEIDA, J. E. M.; PESSOA, L. G. A. Seleção de Isolados de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. Contra a Cigarrinha-da-Raiz da Cana-de-Açúcar *Mahanarva fimbriolata* (Stål) (Hemiptera: Cercopidae) em Laboratório. **Neotropical Entomology**, v. 34, n. 5, p. 791-798, 2005a.

LOUREIRO, E. S.; FILHO, A. B.; ALMEIDA, J. E. M.; PESSOA, L. G. A. Produção de isolados de *Metarhizium anisopliae*, selecionados para o controle de *Mahanarva fimbriolata* (Stal, 1854). **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 72, n. 4, p. 469-472, 2005b.

LOUREIRO, E. S.; MOINO JR., A.; ARNOSTI, A.; SOUZA, G. C. Efeito de produtos fitossanitários químicos utilizados em alface e crisântemo sobre fungos entomopatogênicos. **Neotropical Entomology**, v. 31, n. 2, p. 263-269, 2002.

LOUREIRO, E. S.; MONTEIRO, A. C. Patogenicidade de isolados de três fungos entomopatogênicos a soldados de *Atta sexdens sexdens* (Linnaeus, 1758) (Hymenoptera: Formicidae). **Revista Árvore**, Viçosa, Minas Gerais, v. 29, n. 4, p. 553-561, 2005.

LOURENÇO, C. T.; CARVALHO, S. M.; MALASPINA, O.; NOCELLI, R. C. F. Oral toxicity of Fipronil insecticide against the stingless bee *Melipona scutellaris* (Latreille, 1811). **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 89, p. 921-924, 2012.

LUNA ALVES-LIMA, E. A.; TIGANO, M. S. Citologia de estruturas leveduriformes de *Beauveria bassiana* em meios de cultura líquidos e na hemolinfa de *Spodoptera furngiperda*. **Revista de Microbiologia**, v. 20, p. 85-94, 1989.

LUNA, J. M.; Las hormigas “arrieras”, *Atta* spp. (Hymenoptera: Formicidae) de México. **Dugesiana**, v. 3, n. 1, p. 33-35, 1996.

MADELIN, M. F. **Diseases caused by Hyphomycetous fungi**. In: STEINHAUS, E. A. Insect Pathology: An Advanced Treatise. New York: Academic Press, 1963, p. 233-271.

MARANHÃO, E. A. A.; MARANHÃO, E. H. A. Hongos entomopatogênicos: importante herramienta para el control de “moscas blancas” (Homoptera: Aleyrodidae). **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agrônômica**, v. 5/6, p. 209-242, 2008-2009.



MARÍN, P. M.; PARDEY, A. E. B. Selección de aislamientos de *Beauveria bassiana* virulentos a *Compsus* n. sp. **Cenicafé**, v. 59, n. 2, p. 165-173, 2008.

MARQUES, A.; DIONÍSIO, L.; PALLERO-BUENO, F.; NETO, L. Estudo da capacidade entomopatogénica de fungos fitopatogénicos. **Actas Portuguesas de Horticultura**, n. 25, p. 114-119, 2016.

MARTÍNEZ, M. J. G. **Evaluación de la patogenicidad y esporulación del hongo *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin cepa Metagreen en concentración de  $10^{10}$  c/ml sobre adulto de Mosca Blanca (*Bemisia tabaci*) en el Laboratorio de Hongos Entomopatógenos del Campus Agropecuario de UNAN-León 2011-2012**. 2014. Tesis -Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, León, Nicaragua.

MASCARIN, G. M.; JARONSKI, S. T. The production and uses of *Beauveria bassiana* as a microbial insecticide. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 32, 2016.

MASON, S. C.; SGARBI, C.; COVACHINA, J. C.; PEÑA, J. M.; BERENSZTEIN, N. D.; MARGARÍA, C.; RICCI, M. *Acromyrmex* Mayr (Hymenoptera: Formicidae: Myrmicinae): patrones de distribución de las especies en la provincia de Buenos Aires, Argentina. **Revista del Museo Argentino de Ciencias Naturales**, v. 19, n. 2, p. 185-199, 2017.

MATTE, W. D.; QUEIROZ, L. F.; CORASSA, J. N. Primeiro registro de *Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908 (Hymenoptera: Formicidae) atacando noni (*Morinda citrifolia* L.) em Colorado do Oeste (RO), Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 83, p. 1-4, 2016.

MATTOSO, T. C. **Papel de bactérias ecto-simbiontes em *Acromyrmex subterraneus subterraneus* (Forel, 1901) na proteção contra fungos entomopatogénicos**. 2012. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro.

MASIULIONIS, V. E. **Fungi associated with *Acromyrmex* and basal *Attini* ants from Argentina and Brasil**. 2013. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual Paulista "Julio de Mesquita Filho", Rio Claro.

MAYERHOFER, J.; ENKERLI, J.; ZELGER, R.; STRASSER, H. Biological control of the European cockchafer: persistence of *Beauveria brongniartii* after long-term applications in the Euroregion Tyrol. **Biocontrol**, v. 60, p. 617-629, 2015.

MELO, D. R.; CRUZ, G. B.; REIS, R. C. S.; BITTENCOURT, V. R. E. P. Desenvolvimento dos fungos *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff, 1879) Sorokin, 1883 e *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin, 1912 sobre *Ctenocephalides felis felis* (Bouché, 1835). **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 16, n. 3, p. 166-170, 2007.

MERTZ, N. R.; ALVES, L. F. A.; MARCOMINI, A. M.; OLIVEIRA, D. G. P.; SANTOS, J. C. Efeito de produtos fitossanitários naturais sobre *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. *in vitro*. **BioAssay**, v. 5, n. 3, p. 1-10, 2010.

MEYER, S. T.; NEUBAUER, M.; SAYER, E. J.; LEAL, I. R.; TABARELLI, M.; WIRTH, R. Leaf-cutting ants as ecosystem engineers: topsoil and litter perturbations around *Atta cephalotes* nests reduce nutrient availability. **Ecological Entomology**, v. 38, p. 497-504, 2013.

MINTER, D. W.; HAWKSWORTH, D. L.; ONIONS, A. H. S.; KOZAKIEWICZ, Z. **Descriptive terminology of the conidiogenous structures in *Aspergillus* and *Penicillium***. In: SAMSON, S. A.; PITT, J. I. *Advances in *Penicillium* and *Aspergillus* systematics*. New York: Plenum Press, 1985.

MIRANDA, J. E.; ARAUJO, L. H. A. **Pragas da cultura do gergelim: biologia, danos e métodos de controle**. 1. ed. Campina Grande, Paraíba: Embrapa Algodão, 2003.

MIYASHIRA, C. H. **Influência da cafeína na sobrevivência de saúvas *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae) e no crescimento *in vitro* de seu fungo mutualista**. 2007. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Universidade de São Paulo, São Paulo.

MOINO JR., A.; ALVES, S. B. Determinação de Concentrações de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. Para o Controle de Insetos-Pragas de Grãos Armazenados. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 26, n. 1, p. 15-20, 1997.

MOINO JR., A.; ALVES, S. B. Efeito de imidacloprid e fipronil sobre *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. e no comportamento de limpeza de *Heterotermes tenuis* (Hagen), **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 27, n. 4, p. 611-619, 1998.

MOINO JR., A.; ALVES, S. B.; LOPES, R. B.; NEVES, P. M. O. J.; PEREIRA, R. M.; VIEIRA, S. A. External development of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* in the subterranean termite *Heterotermes tenuis*. **Scientia Agricola**, v. 59, n. 2, p. 267-273, 2002.

MONZÓN, A. Producción, uso y control de calidad de hongos entomopatógenos en Nicaragua. **Manejo Integrado de Plagas**, n. 63, p. 95-103, 2001.

MONTOYA-CORREA, M.; MONTOYA-LERMA, J.; ARMBRECHT, I. ROPERO, M. C. G. Cómo responde la hormiga cortadora de hojas *Atta cephalotes* (Hymenoptera: Myrmicinae) a la remoción mecánica de sus nidos? **Boletín del Museo de Entomología de la Universidad del Valle**, v. 8, n. 2, p. 1-8, 2007.

MORA, M. A. E.; CASTILHO, A. M. C.; FRAGA, M. E. Fungos entomopatogenicos: enzimas, toxinas e fatores que afetam a diversidade. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 18, n. 3, p. 335-349, 2016.

MORAES, A. M. L.; COSTA, G. L.; BARCELLOS, M. Z. C.; OLIVEIRA, R. L.; OLIVEIRA, P. C. The entomopathogenic potential of *Aspergillus* spp. in mosquitoes vectors of tropical diseases. **Journal of Basic Microbiology**, v. 41, n. 1, p. 45-49, 2001.

MOREIRA, A. A.; FORTI, L. C.; CASTELLANI, M. A.; ANDRADE, A. P. P. Arquitetura dos ninhos das formigas cortadeiras de gramíneas. **Biológico**, v. 69, Supl. 2, p. 83-85, 2007.

MOREIRA, R. A. SANTOS, R. A.; ROCHA, O. Avaliações preliminares da toxicidade aguda do pesticida fipronil aos rotíferos *Asplanchna sieboldi*, *Brachionus caudatus* e *Lepadella patella*. **Fórum Ambiental**, v. 8, n. 12, p. 63-75, 2012.

MORESSI, M.; NETO, A. M.; CREPALDI, R. A.; CARBONARI, V.; DEMÉTRIO, M. F.; SILVESTRE, R. Eficiência do controle mecânico de formigas cortadeiras (*Atta laevigata*) no reflorestamento com espécies nativas. **Biológico**, v. 69, Supl. 2, p. 471-473, 2007.

MOUTINHO, P.; NEPSTAD, D. C.; DAVIDSON, E. A. Influence of leaf-cutting ant nests on secondary forest growth and soil properties in Amazonia. **Ecology**, v. 84, n. 5, p. 1265-1276, 2003.

NAVA, D. E.; ZANARDI, O. Z.; MELO, M.; SILVA, S. D. A. **Insetos praga e benéficos na cultura do tungue**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2009.

NEDER, R. N. **Microbiologia: Manual de laboratório**. São Paulo: Nobel, 1992.

NETO, J. A. D. **Associação e compatibilidade de produtos químicos e os fungos *Trichoderma harzianum* e *Paecilomyces lilacinus* no manejo de fitonematóides na cultura da soja**. 2014. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Chapadão do Sul, Mato Grosso do Sul.

NEVES, P. M. O. J.; ALVES, S. B. External Events Related to the Infection Process of *Cornitermes cumulans* (Kollar) (Isoptera: Termitidae) by the Entomopathogenic Fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*. **Neotropical Entomology**, v. 33, n. 1, p. 51-56, 2004.

NEVES, P. M. O. J.; HIROSE, E.; TCHUJO, P. T.; MOINO JR, A. Compatibility of Entomopathogenic Fungi with Neonicotinoid Insecticides. **Neotropical Entomology**, v. 30, n. 2, p. 263-268, 2001.

OKUMURA, F. **Estudo voltamétrico e desenvolvimento de metodologia eletroanalítica para determinação do inseticida fipronil utilizando o eletrodo compósito de grafite-poliuretana**. 2009. Tese (Pós-graduação em Química), Universidade de São Paulo, São Carlos.

OLIVEIRA, A. M.; MARACAJÁ, P. B.; FILHO, E. T. D.; LINHARES, P. C. F. Controle biológico de pragas em cultivos comerciais como alternativa ao uso de agrotóxicos. **Revista Verde**, v. 1, n. 2, p. 1-9, 2006.

OLIVEIRA, B. M. S.; MELO, C. R.; ALVES, P. B.; SANTOS, A. A.; SANTOS, A. C. C.; SANTANA, A. S.; ARAÚJO, A. P. A.; NASCIMENTO, P. E. S.; BLANK, A. F.; BACCI, L. Essential Oil of *Aristolochia trilobata*: Synthesis, Routes of Exposure, Acute Toxicity, Binary Mixtures and Behavioral Effects on Leaf-Cutting Ants. **Molecules**, v. 22, 2017.

OLIVEIRA, C. N.; NEVES, P. M. O. L.; KAWAZOE, L. S. Compatibility between the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* and insecticides used in coffee plantations. **Scientia Agricola**, v. 60, n. 4, p. 663-667, 2003.

OLIVEIRA, F. R. **Prospecção de fungos para o controle de *Anticarsia gemmatilis* HÜBNER, 1818 (Lepidoptera: Noctuidae)**. 2013. Dissertação (Pós-graduação em Agrobiologia) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, Rio Grande do Sul.

OLIVEIRA, R. C.; ALVES, L. F. A.; NEVES, P. M. O. J. Suscetibilidade de *Oligonychus yothersi* (Acari: Tetranychidae) ao fungo *Beauveria bassiana*. **Scientia Agricola**, v. 59, n. 1, p. 187-189, 2002a.

OLIVEIRA, R. C.; NEVES, P. M. O. J.; GUZZO, E. C.; ALVES, V. S. Compatibilidade de fungos entomopatogênicos com agroquímicos. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 23, n. 2, p. 211-216, 2002.

- OLIVEIRA, R. C.; NEVES, P. M. O. J.; ALVES, L. F. A. Seleção de Fungos Entomopatogênicos Para o Controle de *Oligonychus yothersi* (McGregor) (Acari: Tetranychidae), na Cultura da Erva-Mate (*Ilex paraguariensis* St. Hill.). **Neotropical Entomology**, v. 33, n. 3, p. 347-351, 2004.
- ORTIZ, A. G.; FILHO, O. P.; SANTOS, A.; SOUZA, M. D.; FAVARES, L. G.; NASCIMENTO, D. A. Resposta do forrageamento de *Acromyrmex rugosus* (Smith, 1858) e *Acromyrmex balzani* (Emery, 1890) (Hymenoptera: Formicidae) a mudas de *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. com diferentes restrições nutricionais. **Revista Espacios**, v. 38, n. 44, 2017.
- OTTATI-DE-LIMA, E. L. **Produção de *Metarhizium anisopliae* (METSCH.) Sorok. e *Beauveria bassiana* (BALS.) Vuill. em diferentes substratos e efeito da radiação ultravioleta e da temperatura sobre estruturas infectivas desses entomopatógenos**. 2007. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Estadual Paulista “Júlio Mesquita Filho”, Botucatu, São Paulo.
- OTTATI-DE-LIMA, E. L.; FILHO, A. B.; ALMEIDA, J. E. M.; GASSEN, M. H.; WENZEL, I. M.; ALMEIDA, A. M. B.; ZAPPELLINI, L. O. Produção semissólida de *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana* em diferentes substratos e efeito da radiação ultravioleta e da temperatura sobre propágulos desses entomopatógenos. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 77, n. 4, p. 651-659, 2010.
- PACOLA-MEIRELLES, L. D.; AZEVEDO, J. L. Variabilidade natural do fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana*. **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, v. 33, n. 3, p. 657-672, 1990.
- PADULLA, L. F. L.; ALVES, S. B. Suscetibilidade de ninfas de *Diaphorina citri* a fungos entomopatogênicos. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 76, n. 2, p. 297-302, 2009.
- PALMA, A. M. C. **Isclas biológicas para controle de formigas cortadeiras (Hymenoptera: Formicidae)**. 2016. Monografia (Curso de Engenharia Florestal) - Universidade do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, 2016.
- PARI, J. G. Z.; ROJAS, P. V.; LANDAETA, J. C. Z.; MAMANI, F. E. Evaluación de Substratos y Producción de *Beauveria brongniartii* (Sacc.) Petch para Control de Gorgojo de los Andes (*premnortypes* spp) en Cultivo de Papa. **Revista de Investigaciones Altoandina**, v. 17, n. 3, p. 347-354, 2015.
- PASTOR, A. R. **El control de los insectos carpófagos del castaño (*Castanea sativa*) en Andalucía mediante captura masiva con feromona sexual y evaluación de la actividad insecticida de hongos entomopatógenos**. 2013. Tese (Doutorado) - Universidad de Córdoba, Córdoba.
- PAULI, G.; LOPES, R. B.; ALVES, S. B.; JUNIOR, E. R. D.; MASCARIN, G. M. Falsa broca aumenta disseminação de *Beauveria bassiana* em populações de campo da broca-do-rizoma da bananeira. **Ciência Rural**, v. 41, n. 11, p. 1867-1870, 2011.
- PAVONE, D.; DORTA, B. Efecto de agroquímicos sobre el desarrollo del hongo entomopatógeno *Nomuraea rileyi* y su virulencia sobre *Spodoptera frugiperda*. **Bioagro**, v. 22, n. 2, 2010.
- PEDRINI, N.; ORTIZ-URQUIZA, A.; HUARTE-BONNET, C.; ZHANG, S.; KEYHANI, N. O. Targeting of insect epicuticular lipids by the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*:

hydrocarbon oxidation within the context of a host-pathogen interaction. **Frontiers in Microbiology**, v. 4, n. 24, p. 1-18, 2013.

PÉREZ, A. C.; ELÓSEGUI, O.; PADRÓN, N. B. Aislamiento, caracterización morfológica y fisiológica del hongo entomopatógeno *Paecilomyces fumosoroseus* (WIZE) Broum & Smith. **Fitosanidad**, v. 7, n. 3, p. 27-32, 2003.

PERRI, D.; GOROSITO, N.; FERNANDEZ, P.; BUTELER, M. Plant-based compounds with potential as push-pull stimuli to manage behavior of leaf-cutting ants. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 163, p. 150-159, 2017.

PIATTI, P.; CRAVANZOLA, F.; BRIDGE, P. D.; OZINO, O. I. Molecular characterization of *Beauveria brongniartii* isolates obtained from *Melolontha melolontha* in Valle d'Aosta (Italy) by RAPD-PCR. **Letters in Applied Microbiology**, v. 26, p. 317-324, 1998.

PIMENTA, L. B.; ARAÚJO, M. S.; LIMA, R.; SILVA, J. M. S.; NAVES, V. G. O. Dinâmica de forrageamento e caracterização de colônias de *Acromyrmex balzani* (Emery, 1890) (Hymenoptera: Formicidae) em ambiente de cerrado goiano. **Revista Científica Eletrônica de Engenharia Florestal**, n. 9, 2007.

PINTO, A. P. F. **Patogenicidade de fungos entomopatogênicos e compatibilidade com inseticidas para o manejo de *Diaphorina citri* Kuwayama, (Hemiptera: Liviidae)**. 2016. Tese (Doutorado em Agronomia). Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Botucatu, São Paulo.

POTRICH, M.; ALVES, L. F. A.; HAAS, J.; SILVA, E. R. L.; DAROS, A.; PIETROWSKI, V.; NEVES, P. M. O. J. Seletividade de *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* a *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Neotropical Entomology**, v. 38, n. 6, p. 822-826, 2009.

POULSEN, M.; BOT, A. N. M.; CURRIE, C. R.; BOOMSMA, J. J. Mutualistic bacteria and a possible trade-off between alternative defence mechanisms in *Acromyrmex* leaf-cutting ants. **Insectes Sociaux**, v. 49, p. 15-19, 2002.

POULSEN, M.; HUGHES, W. O. H.; BOOMSMA, J. J. Differential resistance and the importance of antibiotic production in *Acromyrmex echinatior* leaf-cutting ant castes towards the entomopathogenic fungus *Aspergillus nomius*. **Insectes Sociaux**, v. 53, p. 349-355, 2006.

QUESADA-MORAGA, E.; RUIZ-GARCÍA, A.; SANTIAGO-ÁLVAREZ, C. Laboratory Evaluation of Entomopathogenic Fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* Against Puparia and Adults of *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 99, n. 6, p. 1955-1966, 2006.

RAMÍREZ, H. G.; GRANJA, A. Z.; AGUILA, E. T. D.; CANTORAL, M. T. **Manual de producción y uso de hongos entomopatógenos**. Peru: Servicio Nacional de Sanidad Agraria, 2014.

RAMOS, E. Q.; ALVES, S. B.; DEMÉTRIO, C. G. B.; COSTA, S. C. Seleção de fungos entomopatogênicos para o controle de *Bemisia tabaci* biótipo B. **Manejo Integrado de Plagas y Agroecología**, n. 73, p. 21-28, 2004.

RAMOS, L. S.; MARINHO, C. G. S.; ZANETTI, R.; DELABIE, J. H. C.; SCHLINDWEIN, M. N. Impacto de Iscas Formicidas Granuladas Sobre a Mirmecofauna Não-Alvo em Eucaliptais Segundo Duas Formas de Aplicação. **Neotropical Entomology**, v. 32, n. 2, p. 231-237, 2003.

RAMOS, V. M.; FORTI, L. C.; BOARETTO, M. A. C.; MOREIRA, A. A.; LOPES, J. F. S. Atratividade de iscas de polpa cítrica pulverizadas com extrato de capim jaraguá (*Hyparrhenia rufa* Nees) para a formiga cortadeira de gramíneas *Atta capiguara*. **Pasturas Tropicales**, v. 28, n. 3, 2006.

RANDO, J. S. S.; FORTI, L. C. Ocorrência de formigas *Acromyrmex* Mayr, 1865, em alguns municípios do Brasil. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 27, n. 2, p. 129-133, 2005.

RASHID, M.; GARJAN, A. S.; NASERI, B.; GHAZAVI, M.; BARARI, H. Compatibility of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* with the insecticides fipronil, pyriproxyfen and hexaflumuron. **Journal of Entomological Society of Iran**, v. 31, n. 2, p. 29-37, 2012.

REIS, M. F.; ROCHA, C. L. M. S. C. Análise citológica do efeito dos extratos aquosos de *Lentinula edodes* e *Pleurotus ostreatoroseus* sobre os ciclos de desenvolvimento de *Aspergillus* (= *Emericella*) *nidulans*. **SaBios: Rev. Saúde e Biol.**, v. 9, n. 1, p. 100-107, 2014.

RIBEIRO, M. M. R.; AMARAL, K. D.; SEIDE, V. E.; SOUZA, B. M. R.; DELLA LUCIA, T. M. C.; KASUYA, M. C. M.; SOUZA, D. J. Diversity of Fungi Associated with *Atta bisphaerica* (Hymenoptera: Formicidae): The Activity of *Aspergillus ochraceus* and *Beauveria bassiana*. **Psyche**, p. 1-6, 2012.

RICCI, M., BENÍTEZ, D.; PADÍN, S.; MACEIRAS, A. **Hormigas argentinas: comportamiento, distribución y control**. Argentina: Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Universidad Nacional de La Plata, 2005.

ROCKWOOD, L. L.; HUBBELL, S. P. Host-plant selection, diet diversity, and optimal foraging in a tropical leafcutting ant. **Oecologia**, v. 74, p. 55-61, 1987.

RODRIGUES, A.; CARLETTI, C. D.; BUENO, O. C.; PAGNOCCA, F. C. Leaf-cutting ant faecal fluid and mandibular gland secretion: effects on microfungi spore germination. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 39, p. 64-67, 2008.

RODRIGUES, A.; PASSARINI, M. R. Z.; FERRO, M.; NAGAMOTO, N. S.; FORTI, L. C.; BACCI JR., M.; SETTE, L. D.; PAGNOCCA, F. C. Fungal communities in the garden chamber soils of leaf-cutting ants. **Journal of Basic Microbiology**, v. 54, p. 1186-1196, 2014.

RODRIGUES, C. J. B. C.; FREITAS, M. C.; PERINOTTO, W. M. S.; SANTOS, F. S.; PAULO, J. F.; QUINELATO, S.; CAMARGO, M. G.; ANGELO, I. C.; BITTENCOURT, V. R. E. P. Estudo morfológico de isolados de *Beauveria bassiana* antes e após reisolamento em *Rhipicephalus microplus*\*. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 38, Supl. 3, p. 54-65, 2016.

RODRÍGUEZ-DEL-BOSQUE, L. A.; ARREDONDO-BERNAL, H. C. **Teoría y Aplicación del Control Biológico**. 1. ed. México: Sociedad Mexicana de Control Biológico, 2007.

RODRÍGUEZ, J.; CALLE, Z.; MONTOYA-LERMA, J. Herbivoría de *Atta cephalotes* (Hymenoptera: Myrmicinae) sobre tres sustratos vegetales. **Revista Colombiana de Entomología**, v. 34, n. 2, p. 156-162, 2008.

ROMER, D.; BOLLAZZI, M.; ROCES, F. Carbon dioxide sensing in an obligate insectfungus symbiosis: CO<sub>2</sub> preferences of leafcutting ants to rear their mutualistic fungus. **Plos One**, v. 12, n. 4, p. 1-17, 2017.

ROSSI, G. D. **Explorando as interações hospedeiro-parasitoide para a identificação de moléculas com potencial biotecnológico**. 2012. Tese (Doutorado em Ciências) - Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, São Paulo.

SABBOUR, M.; ABDEL-RAHEEM, M. Efficacy of *Beauveria brongniartii* and *Nomuraea rileyi* against the potato tuber moth, *Phthorimaea operculella* (Zeller). **The American Journal of Innovative Research and Applied Sciences**, v. 1, n. 6, p. 197-202, 2015.

SALINAS, E. A.; DÍAZ, O. R. A. R. Control de la hormiga cortadora “Akeke” *Acromyrmex landolti* con hongos entomopátogenos. **Investigación Agraria**, v. 13, n. 1, p. 27-32, 2011.

SALVADORI, J. R.; PEREIRA, P. R. V. S. **Manejo integrado de corós em trigo e culturas associadas**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2006.

SÁNCHEZ, S. E. M.; FREITAS, A. L.; ROBERTS, D. W. Detecção de hongos Entomophthorales patógenos a insectos fitófagos, al sur de Bahia, Brasil. **Entomotropica**, v. 16, n. 3, p. 203-206, 2001.

SANTORO, P. H.; NEVES, P. M. O. J.; ALEXANDRE, T. M.; ALVES, L. F. A. Interferência da metodologia nos resultados de bioensaios de seleção de fungos entomopatogênicos para o controle de insetos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, n. 4, p. 483-489, 2007.

SANTOS, A.; ZANETTI, R.; ZANUNCIO, J. C.; MENDONÇA, L. A.; SOUZA-SILVA, A.; MEDEIROS, A. G. B. Eficiência e custo de controle de ninhos de *Atta* spp. (Hymenoptera: Formicidae) com termonebulização. **Cerne**, v. 13, p. 23-27, 2007a.

SANTOS, A. R.; NÚÑEZ, E. D. P. Aislamiento de hongos entomopatógenos en Uruguay y su virulencia sobre *Trialeurodes vaporariorum* West. **Agrociencia**, v. 7, n. 2, p. 71-78, 2003.

SANTOS, A. V.; DILLON, R. J.; DILLON, V. M.; REYNOLDS, S. E.; SAMUELS, R. I. Occurrence of the antibiotic producing bacterium *Burkholderia* sp. in colonies of the leaf-cutting ant *Atta sexdens rubropilosa*. **FEMS Microbiology Letters**, v. 239, p. 319-323, 2004.

SANTOS, A. V.; OLIVEIRA, B. L.; SAMUELS, R. I. Selection of entomopathogenic fungi for use in combination with sub-lethal doses of imidacloprid: perspectives for the control of the leaf-cutting ant *Atta sexdens rubropilosa* Forel (Hymenoptera: Formicidae). **Mycopathologia**, v. 163, p. 233-240, 2007b.

SANTOS, F. J.; FERREIRA, J. M. S.; RIBEIRO, V. J. O.; OLIVIERA, A. C. L.; AZEVEDO, A. G. C. **Protocolo para produção massal de fungos entomopatogênicos II - *Hirsutella thompsonii* (Fischer)**. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2009.

- SANTOS, G. F. **Ação de *Paecilomyces lilacinus* e *Paecilomyces farinosus* sobre teleóginas de *Boophilus microplus***. 2003. Dissertação (Pós-graduação em Biologia de Fungos) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco.
- SANTOS, R. S. **Lixo de formigas cortadeiras e seu papel no desenvolvimento de plantas**. 2016. Dissertação (Pós-Graduação em Ecologia e Conservação) - Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, Sergipe.
- SANTOS, T. T.; CAZETTA, M. L. Formigas da tribo Attini e sua interação com micro-organismos. **Revista Científica da FHO|UNIRARAS**, v. 4, n. 1, p. 36-44, 2016.
- SCHAMNE, P. A. **Efeito de aditivos e fishfertilquitosana® em meios sólidos na produção de conídios de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin e *Beauveria bassiana* (bals.) Vuillemin**. 2010. Dissertação (Pós-Graduação em Agronomia) - Universidade Estadual do Centro-Oeste, Guarapuava, Paraná.
- SCHAPOVALOFF, M. E.; ALVES, L. F. A.; URRUTIA, M. I.; LASTRA, C. C. L. Ocorrência natural de hongos entomopatógenos en suelos cultivados con yerba mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) en Misiones, Argentina. **Revista Argentina de Microbiología**, v. 47, n. 2, p. 138-142, 2015.
- SCHOENIAN, I.; SPITELLER, M.; GHASTE, M.; WIRTH, R.; HERZ, H.; SPITELLER, D. Chemical basis of the synergism and antagonism in microbial communities in the nests of leaf-cutting ants. **PNAS**, v. 108, n. 5, p. 1955-1960, 2011.
- SEYE, F.; BAWIN, T.; BOUKRAA, S.; ZIMMER, J.; NDIAYE, M.; DELVIGNE, F.; FRANCIS, F. Pathogenicity of *Aspergillus clavatus* produced in a fungal biofilm bioreactor toward *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). **Journal of Pesticide Science**, v. 39, n. 3, p. 127-132, 2014.
- SIERPIŃSKA, A.; POPOWSKA-NOWAK, E.; BEDNAREK, A. *Beauveria brongniartii* Sacc. (Petch) against *Melolontha* spp. white grubs in forest nurseries with different soil pH. **Folia Forestalia Polonica**, v. 57, n. 4, p. 210-217, 2015.
- SILVA, C. A. D. Seleção de isolados de *Beauveria bassiana* patogênicos ao bicudo-do-algodoeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 36, n. 2, p. 243-247, 2001.
- SILVA, C. C. A. Aspectos do sistema imunológico dos insetos. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, n. 24, p. 68-72, 2002.
- SILVA, D. M. **Identificação de espécies de *Aspergillus* seção Nigri por taxonomia polifásica e descrição de duas novas espécies do gênero**. 2009. Dissertação (Pós-graduação em Microbiologia Agrícola) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, Minas Gerais.
- SILVA, G. M. H. **Fibra da algaroba: um substrato alternativo para a produção de conídios e enzimas hidrolíticas por fungos filamentosos**. 2017. Monografia (Curso de Biotecnologia) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, Paraíba.
- SILVA, J. C.; CASTRO, V. R.; XAVIER, B. A. **Cartilha do fazendeiro florestal**. 2. ed. Viçosa, Minas Gerais, 2008.



SILVA, L. C.; MOREIRA, R. A.; ROCHA, O. Toxicidade aguda do agrotóxico fipronil para o cladóceros *Bosmina freyi* De Melo and Hebert, 1994. **Periódico Eletrônico Fórum Ambiental da Alta Paulista**, v. 8, n. 2, 2012.

SILVA, M. N. *Beauveria bassiana* (BALS) Vuillemin e *Beauveria brongniartii* (Sacc) Petch: caracterização citológica, atividade proteolítica e análise morfológica do processo de infecção em *Boophilus microplus* e *Zabrotes subfasciatus*. 2013. Monografia (Licenciatura em Ciências Biológicas) - Universidade do Estado da Bahia, Paulo Afonso, Bahia.

SILVA, P. S. D.; BIEBER, A. G. D.; KNOCH, T. A.; TABARELLI, M.; LEAL, I. R.; WIRTH, R. Foraging in highly dynamic environments: leaf-cutting ants adjust foraging trail networks to pioneer plant availability. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 147, p. 110-119, 2013a.

SILVA, R. A.; QUINTELA, E. D.; MASCARIN, G. M.; BARRIGOSI, J. A. F.; LIÃO, L. M. Compatibility of conventional agrochemicals used in rice crops with the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. **Scientia Agricola**, v. 70, n. 3, p. 152-160, 2013b.

SILVA, R. Z.; NEVES, P. M. O. J. Techniques and parameters used in compatibility tests between *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill and *in vitro* phytosanitary products. **Pest Management Science**, v. 61, p. 667-674, 2005.

SILVA, R. Z.; NEVES, P. M. O. J.; SANTORO, P. H. Técnicas e parâmetros utilizados nos estudos de compatibilidade entre fungos entomopatogênicos e produtos fitossanitários. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 26, n. 3, p. 305-312, 2005.

SIMAS, V. R.; COSTA, E. C.; SIMAS, C. A. Controle de *Camponotus punctulatus* Mayr, 1868 (Hymenoptera: Formicidae). **Revista da FZVA**, v. 7/8, n. 1, p. 24-32, 2000/2001.

SIMONATO, J.; GRIGOLLI, J. F. J.; OLIVEIRA, H. N. **Controle biológico de insetos-praga na soja**. In: LOURENÇÃO, A. L. F.; GRIGOLLI, J. F. J.; MELOTTO, A. M.; PITOL, C.; GITTI, D. de C.; ROSCOE, R. Maracaju, MS: Fundação MS, 2014, p. 178-193.

SOARES, I. M. F.; DELLA LUCIA, T. M. C.; SANTOS, A. A.; NASCIMENTO, I. C.; DELABIE, J. H. C. Caracterização de ninhos e tamanho de colônia de *Acromyrmex rugosus* (F. Smith) (Hymenoptera, Formicidae, Attini) em restingas de Ilhéus, BA, Brasil. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 50, n. 1, p. 128-130, 2006.

SOUZA, D. J.; DELLA LUCIA, T. M. C.; ERRARD, C.; D'ETTORRE, P.; MERCIER, J. L. Reconhecimento da prole por operárias companheiras e não companheiras de ninho em *Acromyrmex laticeps nigrosetosus* Forel, 1908 (Hymenoptera, Formicidae). **Ciência Rural**, v. 33, n. 1, p. 91-95, 2003.

SOUZA, R. K. F. **Hipoxia durante o crescimento micelial induz o aumento de tolerância de conídios de fungos entomopatogênicos ao calor e ao menadione**. 2013. Dissertação (Pós-graduação em Ciências Biológicas) - Universidade do Vale do Paraíba, São José dos Campos, São Paulo.

STERLING, A.; GÓMEZ, C. A.; CAMPO, A. A. Patogenicidad de *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycota: Hyphomycetes) sobre *Heterotermes tenuis* (Isoptera: Rhinotermitidae) en *Hevea brasiliensis*. **Revista Colombiana de Entomología**, v. 37, n. 1, p. 36-42, 2011.

STERN, V. M.; SMITH, R. F.; VAN DEN BOSCH, R.; HAGEN, K. S. The integrated control concept. **Hilgardia**, v. 29, n. 2, 1959.

SUEN, G.; TEILING, C.; LI, L.; HOLT, C.; ABOUHEIF, E.; BORNBERG-BAUER, E.; BOUFFARD, P.; CALDERA, E. J.; CASH, E.; CAVANAUGH, A.; DENAS, O.; ELHAIK, E.; FAVÉ, M. J.; GADAU, J.; GIBSON, J. D.; GRAUR, D.; GRUBBS, K. J.; HAGEN, D. E.; HARKINS, T. T.; HELMKAMPF, M.; HU, H.; JOHNSON, B. R.; KIM, J.; MARSH, S. E.; MOELLER, J. A.; MUÑOZ-TORRES, M. C.; MURPHY, M. C.; NAUGHTON, M. C.; NIGAM, S.; OVERSON, R.; RAJAKUMAR, R.; REESE, J. T.; SCOTT, J. J.; SMITH, C. R.; TAO, S.; TSUTSUI, N. D.; VILJAKAINEN, L.; WISSLER, L.; YANDELL, M. D.; ZIMMER, F.; TAYLOR, J.; SLATER, S. C.; CLIFTON, S. W.; WARREN, W. C.; ELSIK, C. G.; SMITH, C. D.; WEINSTOCK, G. M.; GERARDO, N. M.; CURRIE, C. R. The Genome Sequence of the Leaf-Cutter Ant *Atta cephalotes* Reveals Insights into Its Obligate Symbiotic Lifestyle. **PLOS**, v. 7, n. 2, p. 1-11, 2011.

SVEDESE, V. M. **Processo de infecção de *Beauveria bassiana* sobre a broca da cana-de-açúcar *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae)**. 2012. Tese (Pós-graduação em Ciências Biológicas) - Universidade Federal de Pernambuco. Recife, Pernambuco.

TAMAI, M. A.; ALVES, S. B.; ALMEIDA, J. E. M.; FAION, M. Avaliação de fungos entomopatogênicos para o controle de *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 69, n. 3, p. 77-84, 2002a.

TAMAI, M. A.; ALVES, S. B.; LOPES, R. B.; FAION, M.; PADULLA, L. F. L. Toxicidade de produtos fitossanitários para *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 69, n. 3, p. 89-96, 2002b.

TAMAI, M. A.; ALVES, S. B.; NEVES, P. J. Patogenicidade de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. ao ácaro *Tetranychus urticae* KOCH. **Scientia Agricola**, v. 56, n. 2, 1999.

TANADA, Y.; KAYA, H. K. **Insect Pathology**. Academic Press, London, 1993.

TANZINI, M. R.; ALVES, S. B.; SETTEN, A. Toxicidade de produtos fitossanitários utilizados no controle de *Leptopharsa heveae* para fungos entomopatogênicos. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 69, n. 4, p. 65-69, 2002.

TAVARES, M. M. **O papel do ar e água ambientais como veículos de transmissão de Infecções fúngicas no Hospital Agostinho Neto, Cidade da Praia, Cabo Verde**. 2012. Dissertação (Mestrado em Genética Molecular) - Universidade do Minho, Portugal.

TEIXEIRA, G. T.; JAFELICE, R. S. M.; ALMEIDA, C. G.; VASCONCELOS, H. L. Autômato celular no estudo da reocupação de formigas cortadeiras em regiões de forrageamento. **Biomatemática**, v. 24, p. 77-90, 2014.

TEJEDA, C. S.; GARCÍA, A. A.; TORRES, B. C. P.; OLGUÍN, J. F. L. Alternativa Agroecológica para el Manejo de *Atta mexicana* en Puebla, México. **Southwestern Entomologist**, v. 42, n. 1, p. 261-273, 2017.

TÉLLEZ-JURADO, A.; RAMÍREZ, M. G. C.; FLORES, Y. M.; TORRES, A. A.; ARANA-CUENCA, A. Mecanismos de acción y respuesta en la relación de hongos entomopatógenos e insectos. **Revista Mexicana de Micología**, v. 30, p.73-80, 2009.

THOMPSON, J. J. W.; ARMITAGE, S. A. O.; SIVA-JOTHY, M. T. Cuticular colour change after imaginal eclosion is time-constrained: blacker beetles darken faster. **Physiological Entomology**, v. 27, p. 136-141, 2002.

TIAGO, P. V.; FURLANETO, M. C. O papel de proteases degradadoras de cutícula produzidas por fungos entomopatogênicos. **Revista do Programa de Ciências Agro-Ambientais**, v. 2, n. 1, p. 40-51, 2003.

TOFOLO, V. C.; GIANNOTTI, E.; PIZANO, M. A. Exposure of Workers of *Ectatomma brunneum* Smith (Hymenoptera: Formicidae: Ectatomminae) to ant Baits Containing Different Active Ingredients under Laboratory Conditions. **EntomoBrasilis**, v. 8, n. 1, p. 38-44, 2015.

TORRES, A. F.; LASMAR, O.; CARVALHO, G. A.; SANTA-CECÍLIA, L. V. C.; ZANETTI, R.; OLIVEIRA, D. Atividade inseticida de extratos de plantas no controle de formiga cortadeira, em cafeeiro. **Coffee Science**, v. 8, n. 3, p. 371-378, 2013.

TRANter, C.; HUGHES, W. O. H. Acid, silk and grooming: alternative strategies in social immunity in ants? **Behavioral Ecology and Sociobiology**, v. 69, p. 1687-1699, 2015.

TRAVAGLINI, R. V.; STEFANELLI, L. E. P.; ARNOSTI, A.; CAMARGO, R. S.; FORTI, L. C. Isca encapsulada atrativa visando controle microbiano de formigas cortadeiras. **Tekhne e Logos**, v. 8, n. 3, p. 100-111, 2017.

UDO, M. S. B. **Avaliação dos efeitos tóxicos da exposição pré-natal ao Fipronil na prole de ratas Wistar**. 2012. Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo, São Paulo.

VALICENTE, F. H. Controle Biológico de pragas com entomopatógenos. **Informe Agropecuário**, v. 30, n. 251, p. 48-55, 2009.

VAN DEN BOSCH, R.; MESSENGER, P. S.; GUITIEREEZ, A. P. **An introduction to biological control**. New York: Plenum Press, 1982.

VEGA, F. E.; JACKSON, M. A.; MCGUIRE, M. R. Germination of conidia and blastospores of *Paecilomyces fumosoroseus* on the cuticle of the silverleaf whitefly, *Bemisia argentifolii*. **Mycopathologia**, v. 147, p. 33-35, 1999.

VELÁSQUEZ, V. B.; CÁRCAMO, M. P.; MERIÑO, C. R.; IGLESIAS, A. F.; DURÁN, J. F. Intraspecific differentiation of Chilean isolates of the entomopathogenic fungi *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* as revealed by RAPD, SSR and ITS markers. **Genetics and Molecular Biology**, v. 30, n. 1, p. 89-99, 2007.

VERÍSSIMO, C. J. **Controle de carrapatos nas pastagens**. 2. ed. Nova Odessa, São Paulo: Instituto de Zootecnia, 2015.

VERÍSSIMO, C. M. N. **Aspergilose invasiva em pacientes transplantados de medula óssea**. 2007. Dissertação (Mestrado em Biologia Humana e Ambiente) - Universidade de Lisboa, Portugal.

VIGUERAS, G.; PAREDES-HERNÁNDEZ, D.; REVAH, S.; VALENZUELA, J.; OLIVARES-HERNÁNDEZ, R.; LE BORGNE, S. Growth and enzymatic activity of *Leucoagaricus gongylophorus*, a mutualistic fungus isolated from the leaf-cutting ant *Atta mexicana*, on cellulose and lignocellulosic biomass. **Letters in Applied Microbiology**, v. 65, p. 173-181, 2017.

VILELA, E. F. **Status of leaf-cutting and control in forest plantations in Brazil**. In: LOFGREN, C. S.; VANDERMEER, R. K. Fire ants and leafcutting ants: biology and management. Boulder: Wesview Press, 1986.

VITTAR, F. Hormigas (Hymenoptera: Formicidae) de la Mesopotamia Argentina. **INSUGEO**, Miscelánea, v. 17, n. 2, p. 447-466, 2008.

WENZEL, I. M. **Patogenicidade de *Lecanicillium lecanii* (ZIMM.) ZARE & GAMS ao ácaro rajado *Tetranychus urticae* (ACARI: TETRANYCHIDAE) e sua compatibilidade a agrotóxicos e organismos biocontroladores utilizados na cultura do crisântemo**. 2005. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, São Paulo.

WILSON, K.; COTTER, S. C. **Density-dependent prophylaxis in insects**. p. 137-176. In: ANANTHAKRISHNAN, T. N.; WHITMAN, D.W. Insects and Phenotypic Plasticity: Mechanisms and Consequences. Plymouth, UK: Science Publishers Inc.

XAVIER, L. M. S.; ÁVILA, C. J. Patogenicidade, DL50 e TL50 de isolados de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. Para o percevejo castanho das raízes *Scaptocoris carvalhoi* Becker (Hemiptera: Cydnidae). **Ciência Rural**, v. 35, n. 4, p. 763-768, 2005.

XAVIER, M. O.; MADRID, I. M.; CLEFF, M. B.; CABANA, A. L.; FILHO, R. P. S.; MEIRELES, M. C. A. Contaminação do ar por *Aspergillus* em ambiente de reabilitação de animais marinhos. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 45, n. 3, p. 174-179, 2008.

XIAO, G.; YING, S.; ZHENG, P.; WANG, Z.; ZHANG, S.; XIE, X.; SHANG, Y.; ST LEGER, R. J.; ZHAO, G.; WANG, C.; FENG, M. Genomic perspectives on the evolution of fungal entomopathogenicity in *Beauveria bassiana*. **Scientific Reports**, v. 2, p. 1-10, 2012.

YÁÑEZ, M.; FRANCE, A. Effects of fungicides on the development of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae*. **Chilean Journal of Agricultural Research**, v. 70, n. 3, p. 390-398, 2010.

ZANETTI, R.; ZANUNCIO, J. C.; SANTOS, J. C.; SILVA, W. L. P.; RIBEIRO, G.; T.; LEMES, P. G. An Overview of Integrated Management of Leaf-Cutting Ants (Hymenoptera: Formicidae) in Brazilian Forest Plantations. **Forests**, v. 5, p. 439-454, 2014.

ZANETTI, R.; ZANUNCIO, J. C.; SOUZA-SILVA, A.; MENDONÇA, L. A.; MATTOS, J. O. S.; RIZENTAL, M. S. Eficiência de produtos termonebulígenos no controle de *Atta laevigata* (Hymenoptera: Formicidae) em plantio de eucalipto. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 32, n. 4, p. 1313-1316, 2008.

ZARZUELA, M. F. M. **Isolamento de entomopatógenos em colônias de formigas invasoras e sua aplicação para o controle**. 2010. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Rio Claro, São Paulo.

ZHANG, Y.; ZHANG, J.; JIANG, X.; WANG, G.; LUO, Z.; FAN, Y.; WU, Z.; PEI, Y. Requirement of a Mitogen-Activated Protein Kinase for Appressorium Formation and Penetration of Insect Cuticle by the Entomopathogenic Fungus *Beauveria bassiana*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 76, n. 7, p. 2262-2270, 2010.

ZIMMERMAN, G. (1975). **Über die Wirkung systemischer Fungizide auf verschiedene insektenpathogene Fungi imperfecti in vitro**. Nachrichtenbl. Dtsch. Pflanzenschutzdienst (Berl.). 27:113-117.

ZORZETTI, J.; SANTORO, P. H.; CONSTANSKI, K. C.; NEVES, P. M. O. J. Sensibilidade de conídios de *Beauveria bassiana* a fatores abióticos após sucessivos cultivos *in vitro*. **Ciências Agrárias**, v. 35, n. 4, p. 1773-1784, 2014